

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA

**Factores asociados a la seroprevalencia de Toxoplasma
gondii en cerdos de granjas tecnificadas y no tecnificadas
de Lima-Perú**

TESIS

Para optar el título profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Christian Felix Luyo Avila

Lima – Perú

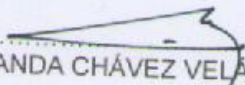
2015



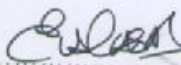
UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
Facultad de Medicina Veterinaria
ESCUELA ACADÉMICO-PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA


Trabajo sustentado y aprobado ante el Jurado designado por la Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria mediante Resolución Directoral N° 128-EAPMV/FMV-2015

PRESIDENTE :


AMANDA CHÁVEZ VELÁSQUEZ

MIEMBROS :


EVA CONSUELO CASAS ASTOS
Asesora de la Tesis


CESAR GAVIDIA CHUCÁN


ANTONIO AMPUERO BUSTILLO

San Borja, 13 de octubre de 2015

V° B°

.....
MV. Mg. HERMELINDA RIVERA GERONIMO
Directora de la Escuela Académico Profesional de
Medicina Veterinaria





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL
TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

En el auditorio principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día martes 13 de octubre de 2015, a las 12:00 horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° 128-EAPMV/FMV-2015, integrado por los siguientes profesores:

AMANDA CHÁVEZ VELÁSQUEZ
EVA CONSUELO CASAS ASTOS
CÉSAR GAVIDIA CHUCÁN
ANTONIO AMPUERO BUSTILLO

Presidente del Jurado
Asesora de la Tesis
Miembro del Jurado
Miembro del Jurado

Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, el Bachiller Don: LUYO AVILA, CHRISTIAN FELIX, para optar el Título Profesional de Médico Veterinario, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

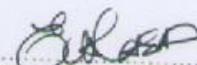
"FACTORES ASOCIADOS A LA SEROPREVALENCIA DE *Toxoplasma gondii* EN CERDOS DE GRANJAS TECNIFICADAS Y NO TECNIFICADAS DE LIMA-PERÚ"

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria del Asesor de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **DIECINUEVE (19)**.


Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Académico Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **13:10 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:


Amanda Chávez Velásquez: Mg. Prof. Principal, D.E.


Eva Consuelo Casas Astos: MV. Prof. Asociado, T.C.


César Gavidia Chucán: Ph.D. Prof. Asociado, D.E.


Antonio Ampuero Bustillo: MV. Prof. Asociado, D.E.



DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios, mis padres: Rudy y Carmen, a mi hermano Alexis y mi prima María, quienes significan todo en mi vida y me han acompañado y apoyado durante el transcurso de mi formación profesional. Por sus consejos, regaños y palabras de aliento que me impulsaron a mejorar y no tirar la toalla.

Muchas Gracias por todo. Los amo.

AGRADECIMIENTOS

A las Dras. Eva Casas (mi asesora), Amanda Chávez y Rosa Pinedo por la amistad, la paciencia y el apoyo brindado en el desarrollo de la tesis.

A mis amigos: Gustavo y Andrea, quienes me acompañaron de inicio a fin de este trabajo de investigación, por toda la experiencia ganada en el campo (desvelos, viajes, necropsias).

A mis amigos de la Promoción LXXVII: Diego, Casandra, Jasbel, Adhemir, Geraldine, Juan, Bernardo, Elizabeth, Beatriz, Nathaly, Claudio, Norelli, Alejandra, Yaquy, Mariella, Cristina, a quienes agradezco por brindarme su amistad durante los 6 años de la carrera.

A mis maestros Alfonso Chavera, Daphne Ramos, padrinos de mi promoción. Al Dr. Antonio Ampuero, Cesar Gavidia, Ruben Mallaopoma, Cesar Ubillus, Eduardo Gutierrez, Wilfredo Quiroz por orientarme y apoyarme en este trabajo de investigación.

A los jóvenes de 3er año, Andrés, Desiree, Melanie, Cesar, Ena, Kendall, Manuel, Brenda, por su paciencia y hacer agradable el curso de Parasitología Veterinaria 2015.

Este trabajo de investigación fue financiado con el apoyo del Fondo de Promoción de Trabajo de Tesis de Pregrado del VRI-UNMSM (Código N°140801071).

ÍNDICE

	Pág
RESUMEN.....	i
ABSTRACT.....	ii
LISTA DE CUADROS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
LISTA DE ANEXOS.....	v
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Antecedentes Históricos.....	3
2.2. Etiología.....	4
2.2.1. Taxonomía.....	4
2.2.2. Morfología.....	5
- Taquizoito.....	5
- Bradizoito y Quiste tisular.....	5
- Ooquiste.....	7
2.3. Ciclo Biológico.....	7
2.3.1. Fase Enteroepitelial o Intestinal.....	7
2.3.2. Fase Esporogónica.....	8
2.3.3. Fase Extraintestinal o Tisular.....	9
2.4. Transmisión.....	10
2.4.1. Transmisión de ooquistes.....	10
- Transmisión de ooquistes por gatos infectados naturalmente	11
- Reeliminación de ooquistes.....	13
- Resistencia de ooquistes a factores medioambientales.....	13
- Diseminación de ooquistes.....	14
2.4.2. Transmisión de quistes tisulares.....	14
2.4.3. Transmisión de Taquizoitos.....	15
2.5. Epidemiología.....	16
2.5.1. Parásito.....	16
2.5.2. Hospedador.....	17
2.5.3. Medio Ambiente.....	18
2.6. Factores asociados a la transmisión de <i>Toxoplasma gondii</i>	19

2.6.1. Presencia de felinos domésticos.....	19
2.6.2. Procedencia.....	19
2.6.3. Edad o grupo etáreo.....	19
2.6.4. Densidad animal.....	20
2.6.5. Fuente de agua.....	20
2.6.6. Medidas higiénico – sanitarias.....	20
2.6.7. Presencia de roedores.....	21
2.7. Importancia en la Salud Pública.....	21
2.8. Prevalencia.....	21
2.9. Patología.....	25
2.9.1. Patogenia.....	25
2.9.2. Histopatología.....	27
2.10. Inmunología.....	27
2.10.1. Respuesta Inmune Humoral.....	27
2.10.2. Respuesta Inmune Celular.....	30
2.10.3. Respuesta Inmune de <i>Toxoplasma gondii</i>	31
2.11. Signos Clínicos.....	32
2.11.1. Toxoplasmosis en animales menores.....	32
2.11.2. Toxoplasmosis en rumiantes.....	33
2.11.3. Toxoplasmosis en porcinos.....	34
2.11.4. Toxoplasmosis en animales silvestres.....	35
2.12. Diagnóstico.....	36
2.12.1. Diagnóstico Serológico.....	36
- Prueba de Sabin y Feldman o Dye Test (RSF).....	36
- Hemaglutinación Indirecta (HAI).....	37
- Inmunofluorescencia Indirecta (IFI).....	37
- Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA).....	38
- Técnica de Aglutinación Modificada (MAT).....	40
- Técnica de Inmunotransferencia o Immunoblot (WB).....	40
2.12.2. Diagnóstico no serológico.....	41
- Aislamiento del parásito.....	41
- Examen Microscópico.....	41
- Inmunohistoquímica (IHQ).....	41

- <i>Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)</i>	42
2.13. Tratamiento.....	42
2.14. Prevención y Control.....	43
2.14.1. <i>Hospedador Definitivo</i>	43
2.14.2. <i>Hospedador Intermediario</i>	44
- <i>En el ganado</i>	44
- <i>En animales de zoológico</i>	45
- <i>En el humano</i>	45
2.14.3. <i>Medio Ambiente</i>	46
III. MATERIALES Y MÉTODOS	47
3.1. Lugar y Tiempo.....	47
3.2. Animales en estudio.....	47
3.3. Tamaño Muestral.....	48
3.4. Toma de Muestras	48
3.5. Laboratorio.....	49
3.5.1. <i>Materiales y Equipos</i>	49
3.5.2. <i>Determinación de anticuerpos contra T. gondii</i>	49
3.6. Análisis de la Información.....	50
3.6.1. <i>Encuesta Epidemiológica</i>	50
3.6.2. <i>Análisis Estadístico</i>	51
IV. RESULTADOS	52
V. DISCUSIÓN	56
VI. CONCLUSIONES	63
VII. RECOMENDACIONES	64
VIII. LITERATURA CITADA	65

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en cerdos procedentes de granjas tecnificadas y no tecnificadas de Lima-Perú e identificar los factores asociados a su transmisión. El trabajo se desarrolló en 407 animales provenientes de 7 granjas con crianzas porcinas tecnificadas y 10 no tecnificadas ubicadas en la franja costera del departamento de Lima. Se aplicaron encuestas epidemiológicas en las granjas para identificar los potenciales factores asociados a la transmisión de *T. gondii* en porcinos. Posteriormente se colectaron las muestras de sangre de cerdos en la fase de acabado procedentes de granjas tecnificadas (264) y crianzas no tecnificadas (143), las muestras de suero fueron conservadas en congelación (-70°C) hasta su procesamiento en el Laboratorio de Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM. Para el diagnóstico de Toxoplasmosis porcina se utilizó la técnica de ELISA indirecta. La asociación entre la seroprevalencia a *T. gondii* y cada una de las variables evaluadas (sexo, procedencia, densidad animal, fuente de agua, tipo de alojamiento, presencia de felinos y control de roedores) fueron analizadas mediante múltiples modelos de regresión logística. La seroprevalencia de *T. gondii* en cerdos de granjas tecnificadas y no tecnificadas de Lima-Perú es de 4.5 y 33.6% respectivamente. Los factores asociados a la transmisión de *T. gondii* en porcinos son la procedencia (OR: 10.61), fuente de agua (OR: 6.44), tipo de alojamiento: mixto (OR: 6.14) y no estabulado (OR: 13.59); la presencia de felinos: de 1 a 3 (OR: 5.29) y ≥ 4 (OR: 16.02); y el control de roedores (OR: 7.81).

Palabras clave: porcinos, *Toxoplasma gondii*, ELISA indirecto, regresión logística

ABSTRACT

The study objective was to determine the seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in pigs from well managed and poor managed farms of the Lima, Peru and identify factors associated with transmission. The work was done in 407 animals from 7 farms whit pig well managed and 10 poor managed located in the coastline of the department of Lima. Epidemiological surveys were applied on farms to identify potential factors associated with the transmission of *T. gondii* in pigs. Subsequently blood samples were collected from pigs in the finishing phase from well managed (264) and poor managed (143), Serum samples were preserved frozen (-70 ° C) until processing in the Laboratory of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine of UNMSM. To diagnose of swine toxoplasmosis was used the indirect technique ELISA. The association between seroprevalence of *T. gondii* and each of the evaluated variables (sex, provenance, animal density, water source, type of accommodation, presence of cats and rodent control) were analyzed mediante multiple models of logistic regression. The seroprevalence of *T. gondii* in pig of the well managed farms and poor managed farms from Lima-Peru is 4.5 and 33.6% respectively. Factors associated with the transmission of *T. gondii* in pigs are the provenance (OR: 12.31), water source (OR: 6.44), type of accommodation: mixed (OR: 6.14) and not stabled (OR: 13.59); the presence of felines: 1 to 3 (OR: 5.29) and ≥ 4 (OR: 16.02); and the rodent control (OR: 7.81).

KEYWORDS: swine, *Toxoplasma gondii*, indirect ELISA, logistic regression

LISTA DE CUADROS

		Pág.
Cuadro 1.	Prevalencia mundial de <i>T. gondii</i> en gatos mediante análisis de heces (1988-2008).....	12
Cuadro 2.	<i>Toxoplasma gondii</i> : Ooquistes por gramo de heces (Opg) en gatos naturalmente infectados.....	13
Cuadro 3.	Seroprevalencia mundial de <i>Toxoplasma gondii</i> en porcinos domésticos procedentes de granjas tecnificadas.....	22
Cuadro 4.	Seroprevalencia mundial de <i>Toxoplasma gondii</i> en porcinos domésticos procedentes de crianza no tecnificada.....	24
Cuadro 5.	Seroprevalencia mundial de <i>Toxoplasma gondii</i> en porcinos silvestres.....	25
Cuadro 6.	Pruebas ELISA desarrolladas para el diagnóstico de infección por <i>Toxoplasma gondii</i> en porcinos.....	39
Cuadro 7.	Seroprevalencia de <i>Toxoplasma gondii</i> y factores asociados a su transmisión en cerdos de Lima-Perú, 2015. Cálculo de OR crudo.....	53
Cuadro 8.	Seroprevalencia de <i>Toxoplasma gondii</i> y factores asociados a su transmisión en cerdos de Lima-Perú, 2015. Cálculo de OR ajustado.....	54
Cuadro 9.	Seroprevalencia de <i>Toxoplasma gondii</i> en cerdos de diferentes regiones de Lima – Perú, 2015.....	55

LISTADE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Esquema comparativo del Taquizoito y Bradizoito de <i>Toxoplasma gondii</i>	6
Figura 2. Reproducción asexual de <i>Toxoplasma gondii</i>	8
Figura 3. Ciclo biológico de <i>Toxoplasma gondii</i>	10
Figura 4. Cinética de los anticuerpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> ...	29

LISTADE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Consentimiento Informado para los propietarios de crianzas porcinas. Lima-Perú...	97
Anexo 2. Encuesta Epidemiológica aplicada en granjas tecnificadas y no tecnificadas de Lima-Perú.....	98
Anexo 3. Protocolo de ELISA indirecto. Priocheck <i>Toxoplasma</i> Ab porcine.....	103

I. INTRODUCCIÓN

Toxoplasma gondii es un protozoo intracelular obligado de distribución mundial, que tiene a los felinos domésticos y silvestres como hospedadores definitivos y una amplia gama de vertebrados como hospedadores intermediarios, la ingestión de carne cruda o mal cocida, infectada con quistes tisulares, o el consumo de alimentos y agua contaminados con ooquistes esporulados son las rutas más comunes de infección (Dubey y Jones, 2008; López *et al.*, 2007).

La toxoplasmosis es una enfermedad clínicamente asintomática; sin embargo la primoinfección durante la gestación tanto en humanos como animales puede causar abortos, anomalías en el feto o muerte perinatal (Gilbert *et al.*, 2000). La infección se encuentra ampliamente distribuida en América Latina, principalmente en países tropicales de clima caliente y húmedo, ocurriendo también en regiones frías del Ártico y Alaska (Sobral *et al.*, 2005).

Toxoplasma gondii se ha aislado de la carne de varias especies animales destinados al consumo humano, como bovinos, ovinos, porcinos, lagomorfos, aves, equinos y animales de caza (Germani y Pacheco, 2003). El consumo de carne (cruda o poco cocida) y productos cárnicos de porcinos infectados con quistes tisulares, ha llevado a considerar al cerdo como un factor de riesgo epidemiológico en el ámbito de la salud pública (Reyes-Lizano *et al.*, 2001; Romero y Sogbe, 2005; Tenter *et al.*, 2009). En ese sentido, los estudios serológicos en animales productores de carne se han convertido en una herramienta esencial para evaluar el grado de exposición de *T. gondii* hacia las personas (Fialho y Araújo, 2003).

La seroprevalencia en porcinos a nivel mundial ha mostrado grandes variaciones en diferentes regiones de un mismo país (Tenter *et al.*, 2000; Dubey, 2009), relacionado a factores sociales, económicos, culturales, geográficos y climáticos, ya que el riesgo de infección por toxoplasmosis es mayor en la población rural debido a sus hábitos y al contacto frecuente con las fuentes de infección (García *et al.*, 1999). Incidiendo de esta manera en altas tasas de prevalencia reportadas en Latinoamérica, donde Venturini *et al* (2004) estimó una prevalencia de 37.8% en Argentina, mientras que Correa *et al* (2008) reporta una cifra de 32.1% en Panamá. Estudios más recientes en Perú estiman una seroprevalencia de 32.3% (Suarez-Aranda *et al.*, 2000) y 27.7% (Saavedra y Ortega, 2004).

Asimismo, el tipo de crianza influye en la seroprevalencia, donde crianzas tecnificadas han logrado disminuir la seroprevalencia del parásito (Kijlstra y Jongert, 2008), debido al manejo intensivo en los últimos 20 años (van Knapen *et al.*, 1995; Kijlstra *et al.*, 2004; van der Giessen *et al.*, 2007), mientras que en crianzas no tecnificadas la seroprevalencia va en aumento (van der Giessen *et al.*, 2007). Observaciones realizadas por Wang (2000) demuestran que crianzas de traspatio, donde los cerdos son criados en deficientes condiciones de higiene, predisponen a una exposición más frecuente del parásito. Además en una crianza porcina existen otros factores asociados a la seroprevalencia de *T. gondii* como la presencia de felinos, condiciones climáticas y de manejo y densidad animal, entre otros (Hejlícek *et al.*, 1997).

En la actualidad se estima una población porcina nacional de 3.2 millones de cerdos, con una saca anual de 2.6 millones y un consumo per cápita de 5.5Kg (MINAGRI, 2015). Asimismo, Lima presenta el 69% del total de granjas tecnificadas aportando el 44% de la producción nacional, y crianzas clandestinas en diferentes zonas marginales (Martinez, 2012). Según el IV Censo Nacional Agropecuario (CENAGRO) Lima y Callao presentan una población porcina de 429 123 cerdos (INEI, 2013).

De acuerdo a los señalado anteriormente, el objetivo del presente estudio fue determinar la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en cerdos procedentes de granjas tecnificadas y no tecnificadas de Lima-Perú, así como identificar las variables epidemiológicas asociadas a su presentación.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Antecedentes Históricos

Toxoplasma gondii fue descrito por primera vez en 1908 por Nicolle y Manceaux en el Instituto Pasteur de Túnez, cuando éstos aislaron del hígado y el bazo de un roedor salvaje africano (*Ctenodactylus gondi*) un parásito intracelular. Nicolle inicialmente lo confundió con *Leishmania* sp. Pero un año después se dio cuenta que habían descubierto un nuevo organismo al que denominaron *Toxoplasma gondii* por su forma arqueada (del griego toxon = arcos) y por el nombre vulgar del roedor en el que fue hallado (Dubey, 2007).

En los siguientes 30 años, *T. gondii* fue hallado en varios hospedadores, principalmente especies aviares (Dubey, 2007); sin embargo el primer *Toxoplasma* viable fue aislado por Sabin y Olitsky (1937) que utilizaron protección cruzada para demostrar que también infectaba a humanos.

En 1940 se encontraron anticuerpos contra taquizoítos extracelulares pero no intracelulares, y en los siguientes 50 años se encontró que la protección contra *T. gondii* principalmente esta mediada por inmunidad celular (Gazzinelli, et al 1991). Simultáneamente, Farrell et al (1952) reportaron por primera vez *T. gondii* en cerdos de Ohio, EE.UU., con una prevalencia del 30%.

Durante los años 1980 y 1990 se desarrollaron métodos para reconocer las diferencias genéticas de *T. gondii* aislados de humanos y animales (Howe y Sibley, 1995), recientemente se ha logrado un mapeo de genes, que ayudaran en el hallazgo de nuevos antígenos para determinar el diagnóstico, protección y mecanismo de la enfermedad (Khan *et al.* 2005).

Toxoplasma gondii es uno de los parásitos más estudiados debido a su importancia en medicina humana y veterinaria, así como un modelo representativo para la biología celular y molecular. Existen muchas referencias sobre este parásito en la literatura y no es posible brindar el mismo trato a todos los autores y descubrimientos (Dubey, 2007).

2.2.Etiología

2.2.1. Taxonomía

Toxoplasma gondii es un parásito coccidioque utiliza al felino como hospedador definitivo, y los animales de sangre caliente como hospedadores intermediarios.

Según Dubey (1994) pertenece a:

- Phylum: Apicomplexa
- Clase: Sporozoa
- Subclase: Coccidia
- Orden: Eucoccidea
- Familia: Sarcocystidae
- Género: Toxoplasma
- Especie: *Toxoplasma gondii*

2.2.2. *Morfología*

▪ *Taquizoito*

El taquizoito (tachos = velocidad) es la etapa de multiplicación rápida, tiene forma de media luna y mide $2 \times 6 \mu\text{m}$ aproximadamente, con un extremo anterior en punta (conoidal) y un extremo posterior redondeado. En las secciones histológicas suelen ser redondos con un núcleo central. Ultraestructuralmente contiene varios organelos y cuerpos de inclusión, posee una película a manera de cubierta exterior, un citoesqueleto constituido por un complejo de la membrana interna, microtúbulos subpeliculares, anillos apicales, anillos polares y un conoide, el sistema de secreción se basa en roptrias, micronemes y gránulos densos. Finalmente posee microporos, mitocondrias, retículo endoplasmático liso y rugoso, complejo de Golgi, ribosomas, núcleo, gránulos de amilopectina, y un apicoplasto (Dubey, 2010).

Las funciones del conoide, roptrias, microporos y micronemas no están completamente esclarecidas pero están probablemente asociadas con la penetración a la célula hospedera y con la creación de un ambiente intracelular adecuado para el crecimiento y desarrollo del parásito (Dubey, 2010)

Los taquizoítos son extremadamente frágiles y no resisten a la desecación y ebullición, son sensibles a la mayor parte de los desinfectantes como el hipoclorito de sodio al 1% o el etanol al 70% y al jugo gástrico, por lo que no pueden transmitirse por vía digestiva (Gómez, 2004).

▪ *Bradizoito y Quiste tisular*

El bradizoito es la etapa denominada quiste tisular, también es llamado cistozoito, generalmente varían en tamaño; en tejidos jóvenes pueden ser tan pequeños como $5 \mu\text{m}$ de diámetro y contienen sólo dos bradizoítos, mientras que los más antiguos pueden contener miles de organismos. Los quistes tisulares en el cerebro son a menudo esferoidales y raramente alcanzan un diámetro de $70 \mu\text{m}$, mientras que los quistes intramusculares son elongados y pueden medir $100 \mu\text{m}$ de largo (Dubey, 2010).

La pared es elástica y delgada ($<0,5 \mu\text{m}$ de espesor) y encierra cientos de bradizoítos con forma de media luna, cada uno de aproximadamente $7 \times 1,5 \mu\text{m}$ en tamaño. Es argirófila y ligeramente PAS positiva. Está compuesta de materiales de la célula hospedera y del parásito. Por último, el quiste tisular está revestido por un material granular, el cual también ocupa el espacio entre los bradizoítos. Algunos bradizoítos degeneran, especialmente en los quistes tisulares más viejos (Dubey, 2010).

A diferencia de los taquizoítos, los bradizoítos son más delgados, tienen un núcleo posterior y son menos susceptibles a la destrucción por enzimas proteolíticas, además poseen mayor cantidad de gránulos de amilopectina que se tiñen de color rojo con el reactivo PAS (Dubey, 2004). Los quistes tisulares, soportan sin problemas temperaturas de 45°C y la acidez gástrica (Gómez, 2004).

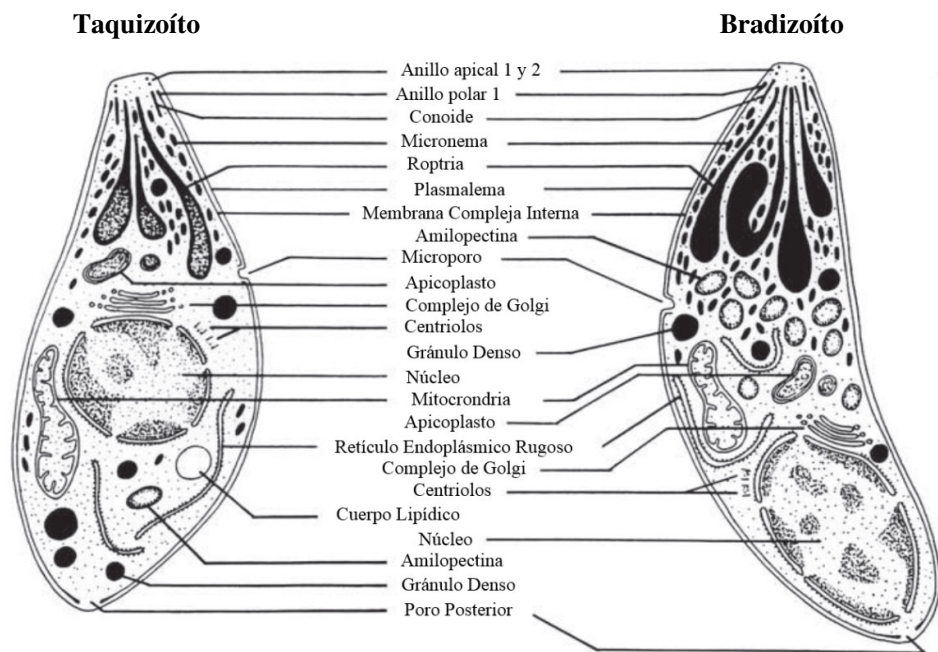


Figura 1. Esquema comparativo del Taquizoíto y Bradizoíto de *Toxoplasma gondii*.
(Adaptado de Dubey, 2010).

- ***Ooquiste***

Los ooquistes no esporulados son subesféricos a esféricos y miden de 10 a 12 μm de diámetro. La pared consta de dos láminas, los gránulos polares están ausentes y el esporonte ocupa casi todo el ooquiste. Por otra parte, los ooquistes esporulados son subesféricos a elipsoidales y miden de 11 a 13 μm de diámetro, su pared consiste de 3 láminas: una lámina externa electrodensa, una lámina media electrolúcida y una lámina interna moderadamente electrodensa, cada ooquiste esporulado contiene dosesporoquistes elipsoidales con residuo y sin cuerpo de Stieda, los cuales miden aproximadamente de 6 a 8 μm . Cada esporoquiste contiene 4 esporozoítos (Dubey, 2010).

Los ooquistes son sensibles al yodo y al formol pero son resistentes a la mayor parte de los desinfectantes y al jugo gástrico. Son inactivados con temperaturas superiores a los 66° C en menos de 10 minutos (Gómez, 2004).

2.3.Ciclo Biológico

2.3.1. Fase enteroepitelial o intestinal

La fase enteroepitelial se presenta en felinos domésticos y silvestres, se inicia con la ingestión de quistes con bradizoítos mediante carnivorismo, ooquistes esporulados por contaminación y en menor medida por taquizoítos. Después de la ingestión de quistes tisulares, la pared quística se disuelve por las enzimas proteolíticas en el estómago y el intestino delgado. Los bradizoítos liberados penetran en las células epiteliales del intestino delgado e inician el desarrollo de numerosas generaciones de *T. gondii*. Cinco tipos morfológicamente distintos (tipo A, B, C, D y E) desarrollan en las células epiteliales y se dividen por reproducción asexual: endodiogenia, endopoligenia o esquizogonia. Posteriormente se realiza la reproducción sexual o gametogonia, en la cual los merozoitos liberados de los tipos D ó E forman el microgamonte y macrogamonte, el primero a su vez se divide para formar microgametos biflagelados, que se movilizan para penetrar al macrogameto, una vez producida la fertilización se origina el cigoto que se reviste de una cubierta para formar el ooquiste, que rompen la célula del epitelio intestinal y será eliminado en las heces (Dubey y Lappin, 2000; Rojas, 2003).

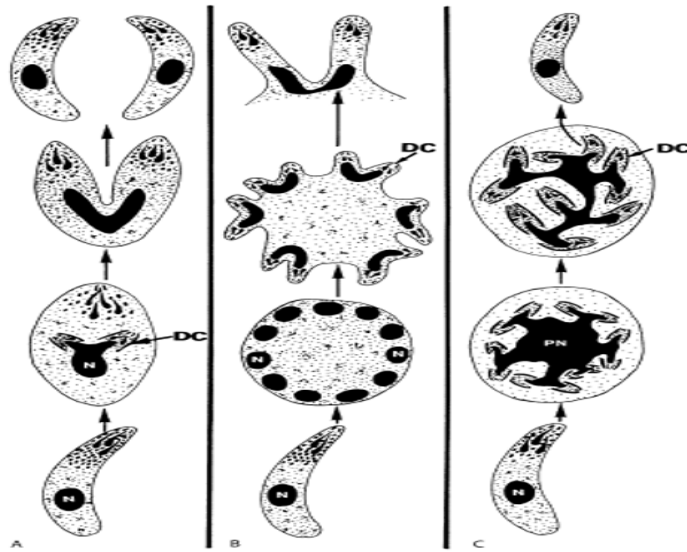


Figura 2.Reproducción asexual de *Toxoplasma gondii*.

A) Endodiogenia, B) Esquizogonia, C) Endopoligenia

(Adaptado de Mehlhorn, 2008)

El periodo prepatente (PPP) varía de acuerdo al estadio ingerido, después de la ingestión de quistes tisulares o bradizoítos el PPP es corto (3 – 10 días) y más del 97% de felinos infectados eliminan ooquistes (Dubey y Lappin, 2000). En el caso de la ingestión de taquizoítos u ooquistes esporulados el PPP es más largo (≥ 18 días), independientemente del número de organismos en los inóculos (Dubey *et al.*, 2005). Además menos del 50% de gatos eliminan ooquistes después de ingerir taquizoitos u ooquistes esporulados (Dubey, 2001). El periodo patente dura de 1 a 3 semanas en condiciones normales, y se produce una sola vez en la vida del gato, pero en caso de inmunodepresión pueden presentarse nuevas infecciones. En este periodo, la capacidad de contaminación ambiental es muy grande, alcanzando cantidades superiores a los 100 000 ooquistes por gramo de heces (Rojas, 2003).

2.3.2. Fase esporogónica

La esporulación se produce fuera del gato después de 1 a 5 días de expulsar los ooquistes, depende de la aireación y la temperatura. El ooquiste esporulado tiene forma subesférica a elipsoidal y mide 11 a 13 μm de diámetro. Cada ooquiste esporulado

contiene dos esporoquistes elipsoidales sin cuerpos Stieda, que miden 6 a 8 μm , presenta residuos de esporoquiste y cada esporoquiste contiene cuatro esporozoitos (Dubey, 2010).

2.3.3. Fase extraintestinal o tisular

Esta fase tiene lugar en los hospedadores intermediarios, como los animales de sangre caliente (mamíferos y aves), incluyendo a los felinos (Rojas, 2003; Rivera y Mondragón, 2010). Después de la ingestión de ooquistes esporulados, los esporozoitos se liberan y penetran en los enterocitos y células caliciformes del epitelio intestinal, además de ubicarse en la lámina propia a través de un mecanismo desconocido (Dubey, 2010).

Los esporozoitos se multiplican en el interior de una vacuola parasitófora 2 horas post infección, por un proceso asexual de división celular conocido como endodiogenia, por el cual se forman dos parásitos de una célula madre. Al saturar el espacio intravacuolar, los nuevos zoitos salen de la célula destruyéndola e invadiendo células vecinas (Sibley *et al.*, 1986; Atías, 1994; Dubey, 2010).

En las siguientes dos horas, algunas células se localizan en sangre periférica circulante, diseminándose vía hemática o linfática, donde parasitan cualquier célula nucleada, con mayor afinidad por las células del sistema retículo endotelial, sistema nervioso central y células musculares (Atías, 1994; Dubey, 2010). Las células resultantes de la multiplicación intracelular acelerada reciben el nombre de Taquizoitos, que concluyen con la formación de pseudoquistes, es decir, células hospedadoras con abundantes parásitos (Atías, 1994). Durante la diseminación tisular de *Toxoplasma gondii*, se activa el sistema inmune con la participación de citocinas tales como interferón gamma, factor de necrosis tumoral y óxido nítrico, que activan mecanismos moleculares que resultan en la diferenciación de los taquizoitos en bradizoitos con la consecutiva transformación de la célula infectada en un quiste tisular (Rivera y Mondragón, 2010).

Los bradizoitos, células de reproducción lenta (Frenkel, 1990) segregan precipitados granulares que se adosan a la membrana vacuolar circundante, esta membrana se expande lentamente a medida que se multiplican en su interior los

quistozoítos. Por último, al fusionarse las granulaciones, se forma una membrana sólida, la membrana quística, en este caso se trata de quistes verdaderos, cuya membrana envolvente deriva de componentes del parásito y de la célula hospedadora (Atías, 1994).

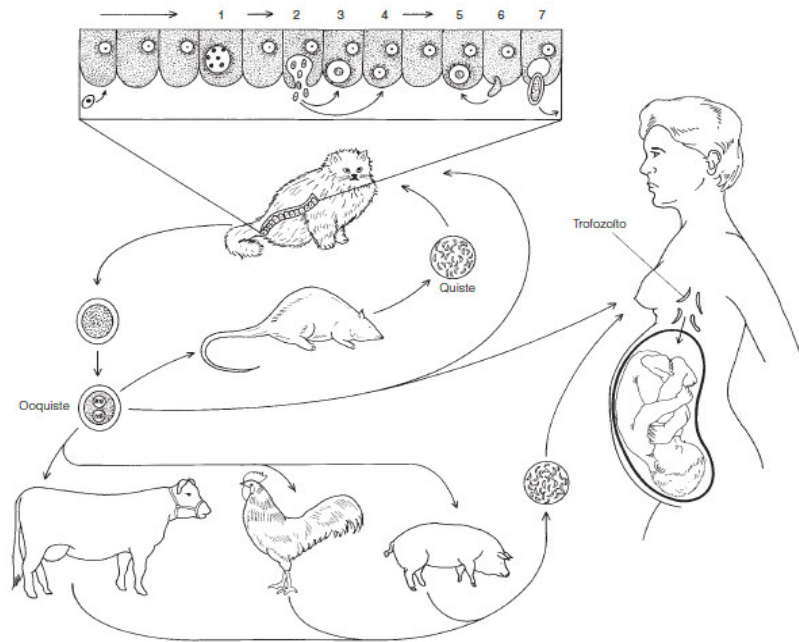


Figura 3. Ciclo biológico de *Toxoplasma gondii*
(Becerril, 2008)

2.4. Transmisión

2.4.1. Transmisión de ooquistes

Los ooquistes son esenciales en el ciclo biológico de *T. gondii*, y como se dijo anteriormente, tanto gatos (*Felis domesticus*) y otros felinos pueden eliminarlos en sus heces (Dubey, 2010). La población felina se asemeja mucho a la humana, especialmente en países occidentales, aproximadamente un tercio de los hogares en Estados Unidos tiene un gato, y este número está en constante aumento, existen aproximadamente 78 millones de gatos domésticos y 73 millones de felinos silvestres, asimismo es probable que casi todas las granjas en los Estados Unidos tengan un gato, ya que en un estudio de explotaciones porcinas en Illinois, 366 gatos fueron atrapados en 43 granjas, con una media de 8,5 gatos por explotación y con una media de 6 gatos seropositivos por granja

(Weigel *et al.*, 1999). Por lo tanto hay un gran potencial de transmisión de *T. gondii* en zonas rurales y urbanas (Amendoeira *et al.*, 2003).

- ***Transmisión de ooquistes por gatos infectados naturalmente***

Experimentalmente, la mayoría de los gatos presentan una seroconversión durante la segunda y tercera semana después de la infección y por lo general después de la eliminación de ooquistes (Dubey *et al.*, 1995). Para estudios epidemiológicos, los datos de seroprevalencia son más significativos que la detección de los ooquistes de *T. gondii* en las heces, de acuerdo a diferentes estudios el total de gatos que presentan anticuerpo anti-*T. gondii* han eliminado ooquistes (Dubey, 2010).

Además, en cualquier momento dado, aproximadamente 1% de los gatos se prevé que eliminarán ooquistes, basado en el hecho que solo eliminan ooquistes por única vez durante 1 semana en toda su vida, y esto es apoyado por estudios coprológicos (Dubey, 2010).

Muchos de los estudios detallados, han evaluado ooquistes por microscopia, la cual tiene un umbral bien bajo (1,000 ooquistes por gramo de heces), a diferencia del bioensayo en ratones que puede detectar bajas cantidades de ooquistes viables. Similar a la prueba de PCR, aunque esta última no detecta ooquistes viables (Dubey *et al.*, 1995; Frenkel *et al.*, 1995).

Cuadro 1.Prevalencia mundial de *T. gondii* en gatos mediante análisis de heces
(1988-2008)

País	Nº de gato	Método			N (%)	Referencia
		Micro	Bioensayo	PCR		
Alemania	24106	Si	No	Si	26(0,11)	Schares <i>et al.</i> , 2008
Argentina	50	Si	Si	No	1(2)	Venturini <i>et al.</i> , 1997
Austria	1368	Si	No	No	27(2)	Edelhofer y Aspöck, 1996
Brasil	237	Si	Si	Si	3(1,2)	Pena <i>et al.</i> , 2006
	327	Si	No	No	2(0,6)	Funada <i>et al.</i> , 2007
Colombia	143	Si	Si	No	0	Dubey <i>et al.</i> , 2006
España	382	Si	No	No	0	Miró <i>et al.</i> , 2004
República Checa	620	Si	No	No	8(1,2)	Svobodová <i>et al.</i> , 1998
Francia	322	Si	No	No	0	Alfonso <i>et al.</i> , 2006
Israel	122	Si	No	Si	11(9)	Salant <i>et al.</i> , 2007
Japón	335	Si	Si	No	1(0,3)	Oikawa <i>et al.</i> , 1990
México	200	Si	No	No	0	Guevara Collazo <i>et al.</i> , 1990
Estados Unidos	326	Si	No	No	3(0,9)	Dabritz <i>et al.</i> , 2007

*Adaptado de Jones y Dubey, 2010

Se ha demostrado que tanto gatos jóvenes (< 6 meses) como viejos (> 6 meses) pueden encontrarse eliminando ooquistes, incluso en gatos lactantes y mayores de 13 años (Dubey y Carpenter, 1993; Schares *et al.*, 2008). El número de ooquistes diseminados por los gatos domésticos infectados naturalmente es en gran parte desconocido, existen pocos estudios que estiman la cantidad de estos, pero se estima que son aproximadamente 1,000 000 ooquistes por gramo de heces y de acuerdo a estudios coprológicos, los gatos eliminan ooquistes durante una semana una vez en su vida (Dubey, 2010).

En el Cuadro 2 se detallan algunos reportes sobre el total de ooquistes por gramo de heces (opg) hallados en felinos domésticos y silvestres, donde se observan cargas variables, superando el millón de ooquistes en un gramo de muestra fecal.

Cuadro 2. *Toxoplasma gondii*: Ooquistes por gramo de heces (Opg) en gatos naturalmente infectados

Tipo de gato	Nº de gatos	Total de Opg	Referencia
<i>Felis catus</i>	2	7.6 x 10 ⁶	Ito <i>et al.</i> , 1974
		1.2 x 10 ⁶	
	1	1x 10 ⁵	Dubey <i>et al.</i> , 1986
	26	>13 x 10 ⁶	Schares <i>et al.</i> , 2008
	1	10 ⁶	Oikawa <i>et al.</i> , 1990
<i>Felis concolor</i>	2	12.5 x 10 ⁶	Aramini <i>et al.</i> , 1998
		2.4 x 10 ⁵	

*Jones y Dubey, 2010

- ***Reeliminación de ooquistes***

El número de ooquistes eliminados en una segunda infección es generalmente inferior a la primera, varios factores pueden afectar a la excreción de ooquistes por los gatos, estos factores incluyen la edad del gato, la cepa *T. gondii*, el estado nutricional, y el número de quistes tisulares ingeridos (Dubey, 2010). Asimismo, coinfecciones con *Isospora felis* puede causar eliminación de ooquistes en gatos con infección crónica (Dubey, 1976).

- ***Resistencia de ooquistes a factores medioambientales***

En un estudio realizado en Texas, los ooquistes sobrevivieron a temperaturas de 6 a 36°C, en las heces de gatos descubiertas (46 días) y enterradas (334 días) (Yilmaz y Hopkins, 1972). La baja humedad y las altas temperaturas son perjudiciales para los ooquistes, asimismo los ooquistes sin esporular son más susceptibles a cambios térmicos que los esporulados, así se ha observado que a 37 °C sobreviven 24 horas (Dubey y Frenkel, 1976). Por otro lado, los ooquistes son altamente resistentes a los desinfectantes; sin embargo mueren a una temperatura superior a los 60 °C (Dubey, 2004). Los rayos ultravioleta también tienen un efecto perjudicial sobre los ooquistes, dependiendo de la dosis (Dumettrè *et al.*, 2008).

- *Diseminación de ooquistes*

Se ha mencionado que el gato es un animal limpio y entierra sus heces, hasta un punto esto es cierto, pero sería más correcto decir "esconde sus heces". Por otra parte, los ooquistes pueden ser llevados a la superficie por las moscas, cucarachas, las lombrices de tierra, y por las condiciones climáticas como la lluvia y la nieve (Alfonso *et al.*, 2008). Estos ooquistes pueden terminar en el inodoro, o ser transportados por nuestro calzado. Se ha reportado que el escurrimiento del agua dulce es un potencial riesgo para la infección de *T. gondii* (Dubey, 2010).

Los animales de sangre fría no son hospederos intermediarios de *T. gondii*, demostrado en numerosos experimentos que se realizaron infectando varios invertebrados, incluyendo artrópodos, con taquizoítos, y aunque el parásito sobrevivió durante mucho tiempo, no había pruebas de su multiplicación en estos animales. Sin embargo, los moluscos pueden actuar como hospederos paraténicos de los ooquistes de *T. gondii* (Lindsay y Dubey, 2009).

La detección de ooquistes de *T. gondii* en muestras ambientales (suelo, agua de bebida) no ha tenido mucho éxito. En Canadá, en un brote de Toxoplasmosis vinculado al agua de bebida no se pudo detectar los ooquistes en las muestras de agua, pero si en el contenido rectal de un puma (*Felis concolor vancouverensis*) capturado y en una pila de materia fecal, ambos próximos al reservorio de agua. En Brasil, a partir de muestras tomadas de pequeños depósitos de agua, a través de filtración. Se pudo demostrar de manera indirecta la presencia de los ooquistes, ya que lo obtenido de la filtración fue dado a cerdos y pollos libres de *Toxoplasma gondii* los cuales desarrollaron la infección (Dubey, 2010).

2.4.2. *Transmisión de quistes tisulares*

Los quistes tisulares son una parte esencial del ciclo de vida de *T. gondii*, estos representan la fase tisular del parásito en espera de ser ingerido por los animales, incluyendo los seres humanos (Dubey, 2010). Weinman y Chandler (1954) sugirieron, por primera vez, que los seres humanos podrían infectarse tras la ingestión de carne mal

cocida; y Desmonts *et al.* (1965) proporcionaron pruebas de ello, en un experimento con niños en un sanatorio de París (ya que se brindaba carne cruda con la creencia de que ayudaría a la recuperación de la tuberculosis). Entonces compararon las tasas de adquisición de la infección por *T. gondii* en los niños antes y después del ingreso al sanatorio. La velocidad de adquisición anual que era del 10% de anticuerpos de *T. gondii* se elevó al 50% después de la adición de dos porciones de carne de ganado apenas cocinadas o carne de caballo a la dieta diaria, y al 100% anual después de la adición de chuletas de cordero apenas cocidos. Dado que la prevalencia de *T. gondii* es mucho mayor en ovejas que en caballos o ganado vacuno, esta ilustró la importancia de carnivorismo en la transmisión de *T. gondii*.

Quistes tisulares viables han sido reportados en animales infectados naturalmente, particularmente en cerdos y ovejas, y también en carne de animales silvestres. Estos quistes son destruidos a temperaturas mayores a 60°C y por procedimientos de curado. También se destruyen por congelación a -20°C, siendocapaces de sobrevivir a almacenamiento a 4-6°C durante un máximo de 2 meses (Dubey, 2010). Así como en animales infectados después de la muerte (Work *et al.*, 2000).

2.4.3. Transmisión de Taquizoítos

El taquizoíto es un organismo muy sensible que no puede sobrevivir fuera del hospedero y es por lo general destruido por las secreciones gástricas. Se puede transmitir vía transplacentaria y en accidentes de laboratorio (pueden ingresar por la córnea y la mucosa de la cavidad oral). Aunque taquizoítos de *T. gondii* se ha encontrado en el semen de cabras, ovejas, y en el hombre, no hay prácticamente ningún riesgo de transmisión venérea. También se ha encontrado en la saliva, pero no hay evidencia de su diseminación por los besos. Además, son encontrados en la leche, pero de igual modo hay poco peligro debido a que la leche generalmente se pasteuriza o incluso se hierve (Dubey, 2010).

2.5.Epidemiología

La toxoplasmosis es una zoonosis parasitaria de distribución cosmopolita con gran impacto clínico en mamíferos y aves, incluyendo al hombre, feto e individuos inmunosuprimidos (Romero y Sogbe, 2005; Klun *et al.*, 2006). Se han descrito elevadas prevalencias en países latinoamericanos como Chile, Colombia, Costa Rica, Cuba, Ecuador, Panamá, México y Venezuela (Díaz *et al.*, 2003; López *et al.*, 2005).

Dentro de sus hospedadores intermediarios de *T. gondii*, los herbívoros y omnívoros son epidemiológicamente los más eficaces, en todos ellos la ingestión de ooquistes representa la principal o única vía de infección. Tanto los quistes tisulares (bradizoítos) presentes en músculos y vísceras como los ooquistes fecales de félidos son importantes para mantener la infección en la naturaleza. Los taquizoítos desempeñan una función importante en la transmisión intrauterina de varias especies animales incluidas al hombre (Acha y Szyfres, 2003).

2.5.1. Parásito

Las principales formas para la infección con *Toxoplasma gondii* son la ingestión de ooquistes esporulados y dispersos en el medio ambiente, así como de quistes tisulares con la carne no tratada químicamente y físicamente (Tenter, 2009).

El ooquiste constituye el eslabón más importante de la cadena epidemiológica de la toxoplasmosis (Dubey, 1994), estos son dispersados en el medio ambiente a través de los vientos, lluvias, aguas superficiales, pasturas naturales, forrajes cosechados como heno, paja y granos que han sido contaminados por heces de felinos domésticos y silvestres que eliminan estos ooquistes durante 3 a 21 días post-infección (Tenter *et al.*, 2000). Asimismo, en su propagación juegan un papel importante los vectores mecánicos como las cucarachas, moscas, gusanos de tierra y escarabajos (Hill *et al.*, 2005).

El ooquiste tiene mayor capacidad infectiva que los bradizoítos y taquizoítos a través de la infección oral. Sin embargo, los taquizoítos desempeñan una función en la transmisión intrauterina de varias especies animales incluidas al hombre (Acha y Szyfres,

2003). Las formas de transmisión en la naturaleza pueden ser por ingestión de alimentos o agua contaminada con ooquistes esporulados (Dubey, 2004), ingestión de tejidos infectados con quistes (Tenter *et al.*, 2000) y taquizoítos por carnivorismo y necrofagia, siendo la fuente más importante de contagio para los felinos domésticos y silvestres, las aves y roedores silvestres que han padecido la forma crónica de la enfermedad y poseen quistes a nivel tisular (Dubey, 1994; Venturini *et al* 1997). Otras modalidades menores de transmisión incluyen la transfusión de líquidos o trasplantes de órganos (Dubey y Lappin, 2000), y la ingestión de leche no pasteurizada o de huevos conteniendo taquizoítos (Dubey, 2004).

Los ooquiste de *Toxoplasma gondii* son altamente resistente a las condiciones medioambientales, incluyendo la congelación. Los ooquistes no son destruidos por tratamientos químicos y físicos que se aplican actualmente en plantas de tratamiento de agua, incluyendo cloración, tratamiento con ozono, y rayos ultravioleta (Dubey, 2010).

Respecto a los quistes tisulares, pueden permanecer viables en los tejidos de animales hasta por 3 semanas a 4°C y, a más de 20°C por 3 días; pueden conservar su vitalidad en los órganos de animales muertos (Hill y Dubey, 2002). Por esta razón la prevalencia de quistes en carnes es baja (0.38%); sin embargo representa una fuente de infección importante hallándose principalmente en carne porcina (Dubey *et al.*, 2005).

2.5.2. Hospedador

Los felinos domésticos y silvestres actúan como hospederos definitivos de *Toxoplasma gondii*, y por lo tanto desempeñan un papel clave en la epidemiología de la infección. La mayoría de felinos se infectan después del nacimiento, ya sea por la ingestión de tejidos infectados u ooquistes esporulados, siendo la primera la forma de transmisión más efectiva (Dubey, 2006). Los animales infectados diseminan ooquistes en el medio ambiente contaminando granjas y establos infectando al ganado (Tenter *et al.*, 2000). Se dice que los felinos domésticos eliminan millones de ooquistes por cada quiste tisular ingerido, tomando en cuenta que animales reservorios como los roedores poseen muchos quistes internamente (Dubey, 2001). Para adquirir inmunidad posteriormente y convertirse en portadores sanos (Dubey *et al.*, 1995).

En un determinado momento, aproximadamente el 1% de los gatos se espera que elimine ooquistes, basandose en la observación de que la mayoría de los gatos sólo arrojan ooquistes durante aproximadamente 1 semana en su vida (Dubey, 2004).

En el pasado, el consumo de carne cruda o poco cocida, especialmente carne de cerdos y ovinos, era considerada como una ruta importante de transmisión a los seres humanos; sin embargo, la prevalencia de *T. gondii* en animales de producción disminuyó considerablemente en áreas con manejo intensivo. Por ejemplo, en varios países de la Unión Europea, las prevalencias de *T. gondii* en porcinos son actualmente <1%. Teniendo en cuenta estos datos, es poco probable que el cerdo sea una importante fuente de infección para los seres humanos en estos países. Sin embargo, es probable que las principales vías de transmisión son diferentes en las poblaciones humanas con diferentes tipos de cultura y hábitos alimenticios (Tenter *et al.*, 2000)

2.5.3. Medio Ambiente

Las características del medio influyen en la prevalencia, siendo mayor en regiones cálidas y/o húmedas, y más baja en climas secos y fríos; también hay diferencias en las tasas de positividad con relación a la altitud, correspondiendo las más altas a las áreas de mayor elevación sobre el nivel del mar (Martin-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

Los ooquistes no esporulados pueden sobrevivir a bajas temperaturas hasta por 3 meses, reteniendo su habilidad para convertirse en infecciosos, cuando se presentan las condiciones ambientales apropiadas (Lindsay *et al.*, 2002). Por otro lado, el instinto natural de los gatos para enterrar u ocultar sus heces proporciona un ambiente protegido, logrando sobrevivir durante 18 meses (Frenkel *et al.*, 1975). Cuando los ooquistes encuentran condiciones favorables en el ambiente externo (agua, terreno húmedo, temperatura de alrededor de 25° C y suficiente oxígeno) alcanzan su estado infectante en un lapso de 1-3 días. Esto ayuda a explicar la alta prevalencia de la toxoplasmosis en zonas templadas, tropicales y subtropicales (Leguía, 2002).

Las condiciones climáticas (altas temperaturas, precipitación media y humedad relativa media) se relacionan significativamente con una alta seroprevalencia, ya que favorecen la esporulación y supervivencia de ooquistes de *T. gondii* facilitando su propagación y mantenimiento en el medio ambiente (Dubey y Beattie, 1988). Finalmente los ooquistes pueden ser diseminados al medio ambiente por artropodos y moluscos (Alfonso *et al.*, 2008).

2.6. Factores asociados a la transmisión de *Toxoplasma gondii*

2.6.1. Presencia de felinos domésticos

La presencia de gatos en granjas porcinas es considerado el principal factor de riesgo para la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii*, estudios epidemiológicos sugieren que los gatos mantienen la infección por *T. gondii* a través de la eliminación de ooquistes contaminando los alimentos y el agua (Lehman *et al.*, 2003; Meerburg *et al.*, 2006). Asimismo el acceso a las instalaciones al aire libre favorece el contacto con los gatos aumentando la probabilidad de ingestión de ooquistes (Venturini *et al.*, 2004).

2.6.2. Procedencia

La seroprevalencia de *T. gondii* presenta variaciones en relación al tipo de crianza observándose mayores porcentajes en aquellas que poseen menor grado tecnológico y de confinamiento (García-Bocanegra *et al.*, 2010). Un estudio realizado por Wang *et al.* (2000) reporta una seroprevalencia de 4.4% a *T. gondii* en crías de traspatio, en comparación a 2.3% en cerdos procedentes de crías tecnificadas.

2.6.3. Edad o grupo etario

Las tasas de infección son mayores en las poblaciones de reproductores que en los cerdos en edad de mercado, lo que indica que la longitud de exposición es un factor en la adquisición de la infección por *T. gondii* (Gamble *et al.*, 2005). El riesgo aumenta con la edad de acuerdo a la seroprevalencia que varía del 15% en cerdos con peso de mercado al 41% en adultos (Damriyasa *et al.*, 2004; Klun *et al.*, 2006).

2.6.4. Densidad animal

La densidad animal no representa un factor de riesgo para la infección por *T. gondii* en cerdos de crianzas industrializadas, que poseen una gran cantidad de animales y menor exposición al medio ambiente, mientras que las prácticas de manejo al aire libre son frecuentes en crianzas pequeñas (Villari *et al.*, 2009). Un tamaño poblacional menor está asociado con una mayor seroprevalencia de *T. gondii* debido al mayor riesgo de exposición por animal, por lo tanto los factores de riesgo, están distribuidos en un menor número de animales (Weigel *et al.*, 1995).

2.6.5. Fuente de agua

El agua procedente de tuberías o tanques no representan riesgo para la infección por *T. gondii*; sin embargo existe un mayor riesgo a partir del agua extraída de pozos (Bahia-Olivera *et al.*, 2003). Sroka *et al.* (2006) reportó la presencia de ADN de *T. gondii* en 27.2% de 114 muestras de agua de pozo. Por otro lado, Dubey (2004) observó una correlación positiva entre el consumo de agua empozada sin hervir y la presencia de anticuerpos de *T. gondii*, especialmente en cerdos de granjas con malas condiciones higiénicas, proporcionando un riesgo potencial de infección.

2.6.6. Medidas higiénico-sanitarias

La seroprevalencia de *T. gondii* en porcinos es un indicador de las medidas higiénicas en la crianza (Damriyasa *et al.*, 2004). Hill *et al* (2009) menciona que el entierro o compostaje de animales muertos en la granja es un factor de riesgo para el aumento de la seroprevalencia al igual que la falta de un programa de control de roedores. Por otra parte aquellas explotaciones que poseen un programa activo de control de roedores (rodenticidas) se asocian a una baja serprevalencia de *T. gondii*, mientras que su ausencia representa 1.57 más riesgo de infección (Villari *et al.*, 2009).

2.6.7. Presencia de roedores

Los roedores son considerados como reservorios de diferentes patógenos y han demostrado jugar un papel importante en la transmisión de varias enfermedades infecciosas (Meerburg y Kijlstra, 2007). Poco se sabe sobre la interacción entre roedores y cerdos, pero en general se acepta que el cerdo como animal omnívoro puede ingerir roedores y sus cadáveres (Kijlstra *et al.*, 2008). En ese sentido se considera la infección por *Toxoplasma gondii* en porcinos de abasto un hecho fortuito dependiendo de su capacidad de consumir roedores seropositivos al protozooario (Maurice *et al.*, 2007).

2.7.Importancia en la Salud Pública

La toxoplasmosis es una zoonosis prevalente de importancia para la salud pública debido a los problemas asociados con la infección congénita y postnatal, siendo la principal causa de infecciones de retina en todo el mundo (Holland, 2003). En la mayoría de los adultos no se observan signos, pero puede causar ceguera después del nacimiento y retraso mental en los niños con infección congénita, además se observa manifestaciones devastadoras y muerte en individuos inmunocomprometidos, tales como pacientes con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (Hill *et al.*, 2006).

El consumo de productos cárnicos crudos o poco cocidos que contienen quistes tisulares de *Toxoplasma gondii* o la ingestión de alimentos o bebidas contaminados con ooquistes esporulados representan fuentes infección de *T. gondii* al hombre (Dubey *et al.*, 2005).

2.8.Prevalencia

Toxoplasma gondii se ha reportado a nivel mundial, donde la seroprevalencia en cerdos alcanza valores superiores a 10-20% en la mayoría de países (Gamble *et al.*, 2005). En Europa las cifras exceden 0,8 a 16% (Veronesi *et al.*, 2011; Turčekova *et al.*, 2013).

En el Cuadro 3 se detalla la seroprevalencia mundial de *Toxoplasma gondii* en porcinos procedentes de granjas tecnificadas, donde se puede observar cifras variadas debido a los diferentes sistemas de gestión, ubicación geográfica y pruebas serológicas; así como también, la mayoría de estudios que fueron realizados en gorrinos y marranas. Durante la última década se aprecia una reducción considerable de la seroprevalencia en países como Alemania (4.1%), Brasil (Paraná 4.0%), Estados Unidos (NAHMS 2.7%) y Taiwan (10.1%) que se atribuye al mejoramiento de la bioseguridad de las diferentes granjas (Dubey, 2009). Mientras que en Perú las frecuencias no presentan diferencias significativas.

La seroprevalencia en marranas en comparación con los cerdos en estapa de acabado es de interés epidemiológico en la transmisión de *T. gondii*; ya que estos últimos se venden frescos, no procesados; mientras que la carne de marrana por lo general es sometida a diferentes procesamiento que eliminan o reducen al parásito (Dubey, 2009).

Cuadro 3. Seroprevalencia mundial de *Toxoplasma gondii* en porcinos domésticos procedentes de granjas tecnificadas

País	Región	Test	Nº	%	Punto de corte	Referencia
Alemania		ELISA	1005	20.5	ND	Fehlhaber <i>et al.</i> , 2003
		ELISA	2041	18.5	ND	Damriyasa <i>et al.</i> , 2004
		ELISA	1500	9.3	ND	Damriyasa y Bauer, 2005
		ELISA	4999	4.1	ND	de Buhr <i>et al.</i> , 2008
Argentina		MAT	230	37.8	25	Venturini <i>et al.</i> , 2004
Brasil						
	Paraíba	IFI	130	36.2	50	Azevedo <i>et al.</i> , 2009
	Paraná	IFI	521	15.4	64	Tsutsui <i>et al.</i> , 2003
		IFI	424	4.0	64	Carlett <i>et al.</i> , 2005
	Río de Janeiro	IFI	38	65.8	ND	Fábregas <i>et al.</i> , 2006
	Rondônia	MAT	80	37.5	25	Cavalcante <i>et al.</i> , 2006
	São Paulo	ELISA	300	9.6	ND	Suarez-Aranda <i>et al.</i> , 2000
		IFI	80	43.7	64	Cavalcante <i>et al.</i> , 2006
Canadá						
	Ontario	ELISA	6048	0.74	ND	Poljak <i>et al.</i> , 2008
Chile		ELISA	340	8.8	ND	Balboa, 2008

País	Región	Test	Nº	%	Punto de corte	Referencia
China						
	Yun nan	HAI	831	16.9	64	Zou <i>et al.</i> , 2009
Eslovaquia		ELISA	320	8.1	50	Antolová <i>et al.</i> , 2007
España						
	Catalonia	MAT	1202	19.0	25	García-Bocanegra <i>et al.</i> , 2010
EEUU						
	Mid west	ELISA	616	4.1	ND	Gebreyes <i>et al.</i> , 2008
	NAHMS	MAT	8086	6.0	32	Patton <i>et al.</i> , 2000
		ELISA	6238	2.7	ND	Hill <i>et al.</i> , 2009
Ghana		ELISA	641	40.6	ND	Arko-Mensah <i>et al.</i> , 2000
Indonesia		LAT	208	6.3	64	Inoue <i>et al.</i> , 2001
Italia		ELISA	3472	10.4	ND	Villari <i>et al.</i> , 2009
Malasia		IFI	100	0	200	Chandrawathani <i>et al.</i> , 2008
México						
	Durango	MAT	1074	12.7	25	Alvarado-Esquivel <i>et al.</i> , 2011
Países Bajos						
		ELISA	406	10.9	ND	Kijlstra <i>et al.</i> , 2008
Panamá		IFI	290	32.1	20	Correa <i>et al.</i> , 2008
Perú						
	Lima	HAI	105	25.2	ND	Bustamante y Suarez, 2000
		ELISA	96	32.3	ND	Suárez-Aranda <i>et al.</i> , 2000
		ELISA	93	33.3	ND	Suárez <i>et al.</i> , 2002
		WB	137	27.7	ND	Saavedra y Ortega, 2004
Polonia		MAT	106	26.4	40	Sroka <i>et al.</i> , 2008
Portugal		MAT	333	15.6	20	de Sousa <i>et al.</i> , 2006
República Checa		DT	259	0.4	4	Vostalová <i>et al.</i> , 2000
		IFI	20	20.0	64	Sedlák y Bártoová, 2007
Serbia		MAT	355	28.9	25	Klun <i>et al.</i> , 2006
Suecia		ELISA	695	3.3	ND	Lundén <i>et al.</i> , 2002
Taiwan		LAT	111	28.8	32	Fan <i>et al.</i> , 2004
		LAT	395	10.1	32	Tsai <i>et al.</i> , 2007
Venezuela						
	Estado Aragua	HAI	425	9.41	64	Romero <i>et al.</i> , 2007
Vietnam		MAT	587	27.2	25	Huong y Dubey, 2007
Zimbabue		IFI	238	19.7	50	Hove <i>et al.</i> , 2005

*Adaptado de Dubey (2009)

****ND:** No Determinado, **ELISA:** Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas, **MAT:** Técnica de Aglutinación Modificada, **IFI:** Reacción de Inmunofluorescencia Indirecta, **HAI:** Técnica de Hemaglutinación Indirecta, **LAT:** Técnica de Aglutinación en Látex, **WB:** Western Blot, **DT:** Dye Test.

Respecto a la crianza no tecnificada, la información sobre la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en porcinos es limitada (Cuadro 4). En los estudios publicados se aprecian diferencias considerables como en Países Bajos (5.62%), Perú (14.84%) y sobre todo México (76%) y Estados Unidos, región de Massachusetts (92.7%).

Cuadro 4. Seroprevalencia mundial de *Toxoplasma gondii* en porcinos domésticos procedentes de crianza no tecnificada

País	Región	Test	N	%	Punto de corte	Referencia
EEUU						
	Massachusetts	MAT	55	92.7	10	Dubey <i>et al.</i> , 2002
	Maryland	MAT	48	70.8	25	Dubey <i>et al.</i> , 2008
México						
	Yucatán	ELISA	30	76.0	15	Jimenez-Coello <i>et al.</i> , 2013
Países Bajos		LAT	635	4.7	64	Kijlstra <i>et al.</i> , 2004
		ELISA	178	5.6	ND	van der Giessen <i>et al.</i> , 2007
Perú						
	Lima	HAI	155	14.8	ND	Bustamante y Suarez, 2000

*Adaptado de Dubey (2009)

****ND:** No Determinado, **ELISA:** Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas, **MAT:** Técnica de Aglutinación Modificada, **HAI:** Técnica de Hemaglutinación Indirecta, **LAT:** Técnica de Aglutinación en Látex.

En el Cuadro 5 se detalla la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en porcinos salvajes, principalmente jabalíes, donde las frecuencias están influenciadas por las diferentes pruebas serológicas, edades variables y caza intensiva (Antolová *et al.*, 2007; Dubey, 2009).

Cuadro 5. Seroprevalencia mundial de *Toxoplasma gondii* en porcinos silvestres

País	Región	Test	N	%	Punto de corte	Referencia
Brasil		MAT	306	4.5	16	Fornazari <i>et al.</i> , 2009
Eslovaquia		ELISA	320	8.1	ND	Antolová <i>et al.</i> , 2007
España		MAT	507	38.4	25	Gauss <i>et al.</i> , 2005
Japón	Kukamoto	LAT	90	4.4	64	Shiibashi <i>et al.</i> , 2004
República Checa		IFI	565	26.2	40	Bártolová <i>et al.</i> , 2006

*Adaptado de Dubey (2009)

****ND:** No Determinado, **ELISA:** Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas, **MAT:** Técnica de Aglutinación Modificada, **IFI:** Reacción de Inmunofluorescencia Indirecta, **LAT:** Técnica de Aglutinación en Látex.

2.9. Patología

2.9.1. Patogenia

Los parásitos son liberados de los quistes tisulares o de los ooquistes por el proceso digestivo en el tracto gastrointestinal del hospedador (Martin-Hernández y García-Izquierdo, 2003). Inmediatamente después de la penetración de *Toxoplasma gondii* en una célula, este se separa del citoplasma celular por medio de una vacuola parasitófora, sintetizada por el protozoo y la célula anfitriona, en cuyo interior los taquizoítos se multiplican por endodiogenia formando pseudoquistes. Cuando el número de taquizoítos alojados en la vacuola parasitófora es muy elevado, la célula se desintegra, permitiendo su liberación al medio extracelular y la invasión de nuevas células (Dubey, 2010).

En la parasitemia, la cual dura una semana, los taquizoítos libres dentro de los macrófagos, linfocitos o neutrófilos son transportados por vía sanguínea o linfática, pudiendo alcanzar todos los tejidos (Dubey, 2010). Penetran en las células gracias a sus

movimientos, unas estructuras llamadas roptrias, a la producción de hialuronidasas y lisozimas donde en algunas ocasiones lo hacen por un procedimiento similar a la fagocitosis (Martin-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

En la segunda semana post infección, la multiplicación de taquizoítos disminuye de manera progresiva hasta cesar completamente (Dubey, 2010), formándose algunos quistes tisulares, los cuales permanecen latentes toda la vida del hospedador, a menos que se produzca una inmunodepresión (Martin-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

La localización de los quistes se encuentra con preferencia en las células del SNC, coriorretina y músculos (esquelético y miocardio). El cerebro constituye un refugio especial de los quistes, debido al hecho de que está protegido de los anticuerpos por la barrera hemato-encefálica, carece de un sistema linfático y presenta niveles muy bajos de expresión de moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH). Ocasionalmente los quistes pueden romperse y dejar en libertad los bradizoítos; si son muchos los que se rompen, se produce una reactivación de la enfermedad que puede ser localizada o generalizada (Kasper, 1998).

En hembras gestantes, los taquizoítos se multiplican en los cotiledones sin llegar a enquistarse, esto posiblemente debido a que el placentoma es un lugar inmunológicamente deprimido, donde el parásito no es afectado por la respuesta inmune humoral o celular (Dubey, 2010). La transmisión placentaria se realiza directamente a través de los vasos sanguíneos, con inflamación previa del corion o provocando una placentitis con multiplicación en las células sincitiales, posteriormente pasan a la sangre fetal por un mecanismo de pinocitosis. También se admite el paso a través del líquido amniótico por deglución fetal (Petersen *et al.*, 2001). Una vez que *T. gondii* atraviesa la barrera placentaria, las consecuencias dependerán de la capacidad del feto para iniciar una respuesta inmune y de la edad fetal en el momento de la infección (Dubey, 2010).

2.9.2. Histopatología

La multiplicación de *Toxoplasma gondii* en los diferentes tejidos da lugar a pequeños focos de necrosis, rodeados de células inflamatorias, especialmente mononucleares (Dubey y Lappin, 2000), también se observan algunos polimorfonucleares y edema (Martin-Hernández y García-Izquierdo, 2003). La fase aguda de la infección o reproducción rápida, es la que ocasiona las áreas de necrosis tisular con altos niveles de parasitemia (Rojas, 2003).

Las lesiones musculares leves atribuidas a *T. gondii* son poco específicas y pueden ser multifactoriales, caracterizadas por degeneración miofibrilar, ruptura celular, fibrosis perivascular e infiltrado inflamatorio linfocítico, en músculos del diafragma, semitendinoso, rectoabdominal e intercostal (Romero *et al.*, 2007).

2.10. Inmunología

En pacientes inmunocompetentes, la infección aguda activa una cascada de respuestas inmunes protectoras. El parásito entra al hospedador a nivel de la mucosa intestinal y evoca la producción de anticuerpos de tipo IgA, lo que constituye más del 80% del total de anticuerpos en mucosa y ha mostrado ser un importante modulador de la protección e indicador de la infección (Remington *et al.*, 2001). Si el parásito evade esta respuesta inmune, se activan la respuesta inmune humoral y celular (Martin-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

2.10.1. Respuesta inmune humoral

Durante la respuesta inmune humoral, *T. gondii* induce rápidamente niveles detectables de anticuerpos de tipo IgA, IgM e IgG en el suero. La IgA se produce durante la fase digestiva del ciclo del parásito, al ser sensibilizados los linfocitos que se encuentran en la lámina propia del tracto intestinal y persiste en la circulación durante 8 a 9 meses, esta inmunoglobulina no atraviesa la barrera placentaria (Hegab y Mutawa, 2003).

La producción específica de anticuerpos IgM es un signo de infección reciente, las evoluciones más frecuentes (>90 % de los casos) involucran: una rápida elevación de los títulos de IgM aparece en el líquido peritoneal a los 2 días y en suero en la primera semana post-infección (Filisetti y Candolfi, 2004), que desaparecen después de varios meses.

La presencia de IgM en la circulación sanguínea de los neonatos es de origen fetal, y sirve en el diagnóstico de infección congénita, debido a que esta inmunoglobulina no atraviesa la barrera placentaria (Jenum y Stray-Pedersen, 1998).

Los títulos de IgG ascendentes de 1 a 3 semanas post infección y alcanzan su máximo nivel 3 a 6 meses después, superando los 1000 UI/mL, para luego disminuir lentamente y quedar como niveles bajos por el resto de la vida (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

Excepcionalmente pueden haber respuestas inmunológicas mayores y más prolongadas con títulos de IgG superiores a 1000 UI/mL durante años, acompañados o no de IgM. En respuestas inmunológicas mínimas, observadas frecuentemente cuando se aplica un tratamiento precoz, los títulos de IgM son variables, con un ascenso lento y de débil amplitud de los niveles de IgG, hasta un máximo de 100 UI/mL (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003).

Para considerar como primoinfección a las respuestas inmunológicas sin aparición de IgM se toma en cuenta la aparición y aumento de los títulos de IgG durante dos o tres meses (Jenum y Stray-Pedersen, 1998).

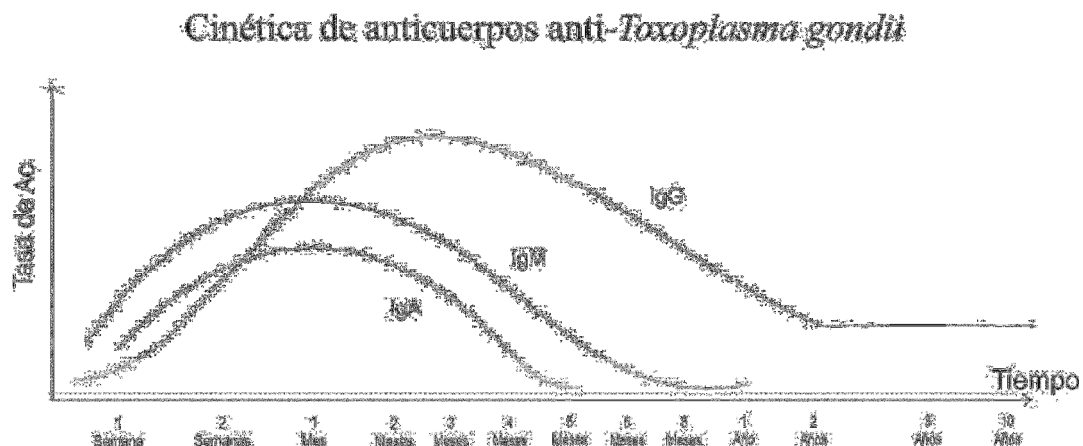


Figura 4. Cinética de los anticuerpo anti-*Toxoplasma gondii*

(Adaptado de Romero, 2007)

Se ha demostrado experimentalmente que la depleción de las células B mediante la administración de anti- μ anticuerpos en ratones infectados con *T. gondii* produce mortalidad asociada con neumonía, miocarditis y/o encefalitis. Esto sugiere que la producción de anticuerpos por las células B puede ser importante para controlar la infección. De manera similar se observó que un grupo de ratones deficientes en células B fueron más susceptibles a la infección por *T. gondii* en comparación con el grupo control (Kang *et al.*, 2000).

Los cerdos inoculados con taquizoítos de *T. gondii* de manera intravenosa desarrollan anticuerpos IgM 8-10 días e IgG 10-17 días post-infección (Lind *et al.*, 1997; Jungersen *et al.*, 1999). Mientras que después de la ingestión de 1 o 10 ooquistes desarrollan anticuerpos 3 semanas post-infección detectados mediante el Test de Aglutinación Modificada (MAT); sin embargo la seroconversión medida por las técnicas de Hemaglutinación Indirecta (HAI) y Aglutinación en Látex los títulos se mantuvieron bajos (Dubey *et al.*, 1996).

Por otra parte, los cerdos infectados experimentalmente con taquizoítos, quistes tisulares u ooquistes esporulados desarrollan anticuerpos IgG específicos detectados a partir de los 10 a 14 días, alcanzando valores máximos de 3 a 6 semanas y persistiendo durante 3 a 4 meses mediante 4 modelos de ELISA (Elisa indirecta IgM, Elisa indirecta IgG, Elisa sandwich de bloqueo anti-P₃₀ y Elisa sandwich reverso), IgM

apareció rápidamente pero desapareció a las 2 semanas; sin embargo presentan reacción cruzada con diferentes patógenos: *Ascaris suum*, *Trichinella spiralis*, *Isospora suis*, *Salmonella* spp., *Yersinia* sp. y *Actinobacillus* spp. a excepción de *Sarcocystis miescheriana* (Lind *et al.*, 1997).

Dubey y Urban (1990) reportaron la transmisión transplacentaria de *T. gondii* hallando anticuerpos en los fluidos corporales y suero fetal y detectando al protozooario por histopatología; sin embargo no evidenciaron la transmisión de anticuerpos a través de la placenta debido a que el cerdo presenta una placenta epiteliocorial y aquellos procedentes del calostro persistían durante 3 meses.

2.10.2. Respuesta inmune celular

El desarrollo de una fuerte respuesta inmune celular es esencial para minimizar los niveles de replicación parasitaria y daño tisular. En la ausencia de esta respuesta, la continua citólisis de células infectadas puede conducir a severas patologías. Esto es mejor ilustrado en individuos con defectos en la función de células T, en los que hay un gran riesgo de desarrollar toxoplasmosis clínica debido a una replicación descontrolada del protozooario (Shapira *et al.*, 2004).

Los granulocitos son las primeras células fagocíticas reclutadas al sitio de infección. Recientemente Dunay *et al* (2010) examinaron la función de los granulocitos en la protección contra la infección de *T. gondii* usando anticuerpos monoclonales específicos para cualquiera de los granulocitos o para agotar los granulocitos y monocitos inflamatorios observando un papel crítico para los monocitos inflamatorios pero no para los granulocitos en la fase aguda de la infección.

La interacción entre el parásito y las células presentadoras de antígeno es clave para la generación de una respuesta inmune celular, el proceso de invasión del parásito implica la secreción de citoquinas pro-inflamatorias y otras moléculas de fase aguda, así como defensinas, y reguladores de moléculas de superficie celular (Buzoni-Gatel *et al.*, 2006).

Las células dendríticas producen IL-12 en respuesta a *T. gondii* y son importantes para la resistencia contra la infección (Scott y Hunter, 2002). El agotamiento de estas, suprime la producción de IL-12 y aumenta la susceptibilidad a la infección aguda, mientras que la transferencia en ratones antes de la infección restaura la producción IL-12 e IFN- γ y aumenta la resistencia a infección (Liu *et al.*, 2006).

Las células NK producen IFN- γ capaces de eliminar las células infectadas, su citotoxicidad está regulada por la IL-18 a partir de macrófagos y células dendríticas, y aumenta su proliferación a través de las acciones de IL-18 e IL-15 (French *et al.*, 2006). Las células NK migran a los tejidos linfoides en el sitio de la infección donde liberan IFN- γ para activar macrófagos y aumentar el MHC II (Khan *et al.*, 2006).

Las células CD4+ y CD8+ específicos de *T. gondii* contribuyen a la defensa del huésped a través de la producción de IFN- γ TNF- α , IL-6 e IL-1 (Langermans, *et al.*, 1992). Las células T CD4 + liberan IL-2, que estimula la proliferación de células T CD8 +, estudios inmunogénicos también señalan la influencia de MHC de tipo I y II sobre la resistencia y la susceptibilidad al parásito (Brown *et al.*, 1995).

2.10.3. Respuesta inmune de *Toxoplasma gondii*

Frente a la respuesta inmune que genera el hospedador, *T. gondii* induce mecanismos de regulación desencadenando la producción de citocinas anti-inflamatorias, incluyendo IL-10 y TGF- β (Gazzinelli *et al.*, 1996), que inhibe la producción de IFN- γ (Khan *et al.*, 1995) e impide la activación de macrófagos (Langermans, 2001). La IL-10 y la TGF- β inhiben la actividad de las células NK (Fiorentino *et al.*, 1991) y la producción de IFN- γ respectivamente (Hunter *et al.*, 1995).

Recientemente, Oldenhove *et al* (2009) investigaron el destino de las células T reguladoras durante la infección por *T. gondii*, donde la alta respuesta inmune mucosal de células Th1 polarizadas se asociaron con una disminución de células T reguladoras (Treg) a través de diferentes mecanismos, incluyendo el bloqueo de la inducción de células Treg y la alteración de la homeostasis de la endogénesis. En particular el cierre de

la producción de IL-2 contribuye a la incapacidad de las células Treg de suprimir las respuestas efectoras y eventualmente desarrollar la inmunopatogénesis.

Toxoplasma gondii es capaz de estimular la producción de Lipoxina A (LXA₄), un eicosanoide que puede inhibir la producción de IL-12 por las células dendríticas (Aliberti, *et al.*, 2002). Además interfiere con la expresión de MHC clase I, MHC clase II y la inducción de IFN- γ en la superficie celular de macrófagos (Luder y Seeber, 2001).

Es importante mencionar que la inhibición de la expresión de MHC clase II por las células presentadoras de antígeno influye en la activación y proliferación de células T CD4⁺. Esto demuestra que las células T CD4⁺ son menos eficaces en la restricción de la diseminación del parásito que las células T CD8⁺ (Suzuki *et al.*, 1988).

2.11. Signos Clínicos

La manifestación de los signos clínicos de la toxoplasmosis humana y animal depende principalmente de la respuesta inmune del hospedador y de la virulencia de la cepa de *T. gondii* (Luft *et al.* 1984).

2.11.1. Toxoplasmosis en animales menores

En el felino generalmente se presenta de manera asintomática, los cachorros infectados congénitamente son los más susceptibles; sin embargo también se observan manifestaciones clínicas en gatos adultos (Vollaire, 2005). Los signos más comunes son: neumonía, fiebre, anorexia, letargo, disnea y polipnea, a la palpación abdominal manifiesta dolor que es considerado un indicativo de hepatitis o pancreatitis, además de signos nerviosos como ceguera parcial o total, comportamiento agresivo, falta de coordinación, anisocoria y convulsiones. De los signos clínicos mencionados anteriormente la neumonía es considerado el más importante y fatal (Dubey, 2010).

En el canino los signos clínicos son variables y dependen de diferentes factores como: edad, severidad de la infección, órganos afectados y la presencia de infecciones concomitantes. En los neonatos, la toxoplasmosis generalmente ocurre bajo la forma hiperaguda, diseminada y fatal. En canes jóvenes, los signos clínicos más frecuentes son gastrointestinales, respiratorios y neuromusculares, aunque también puede ocurrir una infección generalizada, la cual cursa con fiebre intermitente, disnea, diarrea y vómito (Alves y De Lima, 2004).

La forma neuromuscular es caracterizada por radiculomielitis y miositis, que llevan a paresia y a parálisis progresiva, a veces con compromiso del sistema nervioso central. Los signos neurológicos varían de acuerdo a la localización de las lesiones: convulsiones y letargia indican lesiones en el cerebro; ataxia, tremor e inestabilidad indican lesión cerebelar; parálisis de los miembros se asocia a lesión medular; y atrofia muscular, claudicación y mialgia son indicativas de miositis (Alves y De Lima, 2004).

En canes adultos los signos clínicos son variables, siendo los más comunes: anorexia, letargia, fiebre, disnea por neumonía intersticial, hiperestesia debido a la miositis y diversos signos neurológicos cuando existe compromiso del sistema nervioso central (Alves y De Lima, 2004). Asimismo casos de Toxoplasmosis fatal pueden ocurrir en canes inmunosuprimidos debido a una infección concurrente con el virus del distemper canino (Dubey, 2010).

2.11.2. Toxoplasmosis en rumiantes

En el ganado bovino la signología es poco común, y los abortos son infrecuentes, donde la mayoría de ellos son confundidos por una infección de *Neospora caninum* (Dubey y Lindsay, 1996). Los intentos de aislar *T. gondii* de bovinos seropositivos no suelen tener éxito, lo que indica que la carne no puede ser una fuente importante de infección humana (Dubey *et al.*, 2005). Sin embargo, los quistes tisulares viables pueden permanecer en el ganado bovino de hasta 1191 días (Dubey y Thulliez, 1993).

En el ovino y caprino, se observa múltiples abortos que representan un problema importante en la producción. Otros signos comunes son fiebre, fetos momificados, nacidos muertos, así como también corderos nacidos vivos (Coughlan *et al.*, 1995; Owen *et al.*, 1998) Después de la infección los animales adquieren una inmunidad sólida. Por otro lado, la vacuna para prevenir el aborto en ovejas está disponible en varios países (Buxton y Innes, 1995).

En el camélido, la información disponible sobre la toxoplasmosis consiste en estudios serológicos realizados en diferentes empresas alpaqueras (Fernández-Baca, 1991). En el Perú, Gómez *et al.* (2003) reportaron una seroprevalencia en alpacas y llamas de 44.5 y 27.9% respectivamente. Posteriormente Chávez-Velásquez *et al.* (2005) hallaron la seroprevalencia de *T. gondii* en llamas y vicuñas adultas de 44.2 y 5.5% respectivamente. Respecto a la signología, se observó toxoplasmosis aguda en camellos (*Camelus dromedarius*) de 6 años, donde el signo más común fue la disnea y a la citología de efusiones pleurales se observaron taquizoítos (Hagemoser *et al.*, 1990). En llamas de 13 meses se ha reportado toxoplasmosis sistémica fatal, que involucra órganos como corazón, glándula tiroides, estómago, intestino, riñón, glándula suprarrenal, hígado y la muerte es atribuida a miocarditis. Los hallazgos de necropsia son necrosis en los órganos anteriormente mencionados y úlceras en el tercer compartimento estomacal (Dubey *et al.*, 2014).

2.11.3. Toxoplasmosis en porcinos

La toxoplasmosis clínica en el cerdo es poco común, sin embargo puede causar partos prematuros y neumonía, se han reportado casos inusuales de miocarditis y encefalitis (Dubey y Jones, 2008). Por otro lado, Kumagai *et al* (1988) reportaron toxoplasmosis neonatal en siete lechones, donde cuatro de ellos nacieron muertos y los demás presentaron alteraciones en la marcha y muerte antes de los 15 días de edad. También se reportan signos como fiebre, disnea y debilidad en las extremidades (Weissenbock y Dubey, 1993).

La toxoplasmosis congénita es raro en porcinos (Dubey, 2010), y depende de la cepa del parásito, vía de infección, raza y etapa de gestación de la marrana (Dubey y

Beattie, 1988), un caso de toxoplasmosis congénita fue descrito por Haritani *et al* (1988) en cuatro lechones nacidos muertos que presentaron neumonía y necrosis hepática.

Recientemente, Kim *et al* (2008) reportó la toxoplasmosis clínica en cerdas adultas que presentaron síndrome febril, anorexia, signos neurológicos y pocos abortos, donde hallaron *T. gondii* en tejidos de los fetos abortados.

La mayoría de las infecciones son subclínicas y cuentan con signos no patognomónicos como hipertermia, anorexia, taquipnea (Anyarat *et al.*, 2006; Poljak *et al.*, 2008).

En el Perú, los estudios realizados sobre Toxoplasmosis porcina se han enfocado en base a la seroprevalencia en el departamento de Lima, en ese sentido Bustamante y Suárez (2000) estimaron la frecuencia de *T. gondii* en cerdos procedentes de crianza tecnificada (25.2%) y no tecnificada (14.8%) utilizando el método de Hemaglutinación indirecta. Posteriormente la seroprevalencia de *T. gondii* en porcinos fue de 32.3% (Suárez *et al.*, 2000) y 33.3% (Suárez *et al.*, 2002) mediante la técnica de ELISA Indirecta. Finalmente Saavedra y Ortega (2004) hallaron una prevalencia de 27.7% en cerdos mediante la técnica de Western Blot.

2.11.4. Toxoplasmosis en animales silvestres

En los ursidos no hay reportes confirmatorios sobre casos de toxoplasmosis clínica; sin embargo se ha reportado en humanos casos de toxoplasmosis después del consumo de carne de oso salvaje, por lo que se deduce que estos mamíferos presentan en su tejido muscular quistes tisulares de *T. gondii* (Dubey, 2010).

Los primates del Nuevo Mundo son más susceptibles a la toxoplasmosis que los primates del viejo mundo debido a sus hábitos terrestres, especialmente los monos ardilla. Algunos de estos animales pueden morir de repente, sin síntomas obvios (Dubey, 2010). Méndez *et al.* (2011) reportaron cinco casos de monos ardilla (*Saimiri sciureus*) que presentaron muerte súbita previo enrojecimiento de los ojos y secreciones nasales espumosas y sanguinolentas, a la necropsia se observó pulmón con aspecto nodular,

higado pálido y aumentado de tamaño, al examen microscópico se evidenció quistes bradizoítos en los órganos afectados que posteriormente se confirmó por inmunohistoquímica y microscopía electrónica.

Estudios realizados en nuestro país se han enfocado en centros de tenencia silvestre, Muñoz *et al.* (2005) hallaron una frecuencia de *T. gondii* en primates *Cebus apellade* 90.3%. Posteriormente Navarro (2014) halló la seroprevalencia en mamíferos del orden carnívora (87.8%) y primate (80.8%). Donde ambos autores atribuyen el alto porcentaje a factores de riesgo como la presencia de felinos y roedores que merodean libremente por los ambientes de los animales.

2.12. Diagnóstico

El diagnóstico de la toxoplasmosis se realiza mediante métodos biológicos, serológicos, histológicos, o por la combinación de estos, mientras que el diagnóstico clínico es difícil de establecer ya que los signos clínicos son diversos, inespecíficos y en muchos casos están ausentes. (Dubey, 2010).

2.12.1. Diagnóstico serológico

- Prueba de Sabin y Feldman o Dye Test (RSF)

La reacción de Sabin y Feldman, mide preferentemente anticuerpos de tipo IgG, (Borbolla *et al.*, 2005; Ovalle *et al.*, 2000). En esta prueba, los taquizoítos vivos se incuban con el complemento, el suero de prueba y un colorante fuertemente alcalino de azul de metileno (pH: 11) a 37° C durante 1 hora (Dubey, 2010). La técnica se fundamenta en la lisis y destrucción de la membrana citoplasmática de los taquizoítos producida por los anticuerpos y mediada por el complemento, como resultado de ello los taquizoítos afectados no incorporan el azul de metileno y aparecen incoloros, por otra parte en la reacción negativa, los taquizoítos vivos toman activamente el color azul del reactivo (Dubey, 2010; Kijlstra *et al.*, 2004). Esta prueba serológica es altamente sensible (99%) y específica (100%) (Ovalle *et al.*, 2000); sin embargo ha sido reemplazado por otras técnicas nuevas debido a sus altos costos, dificultad de

manipulación y el peligro potencial que representapor la utilización de organismos vivos (Borbolla *et al.*, 2005; Dubey, 2010).

- ***Hemaglutinación Indirecta (HAI)***

La técnica de hemaglutinación indirecta es una prueba serológica utilizada rutinariamente en muchos laboratorios, teniendo una sensibilidad de 29.4% y una especificidad de 98.3% demostrada en porcinos (Dubey *et al.*, 1995). Detecta anticuerpos IgG y se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* de producir aglutinación en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con antígenos citoplasmáticos y de membrana del parásito, el empleo de ambos tipos de antígenos incrementa la sensibilidad del método permitiendo la detección precoz de la infección, en ese sentido tanto la presencia de anticuerpos heterófilos como la aparición de IgM, características del período agudo de la parasitosis, se investigan empleando tratamiento con 2-Mercaptoetanol (2-ME) y eritrocitos no sensibilizados para el control y absorción de heterofilia (Wiener Lab, 2000).

- ***Inmunofluorescencia Indirecta (IFI)***

La técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) posee una alta sensibilidad (99%) y especificidad (100%) (Ovalle *et al.*, 2000). La prueba se fundamenta en la detección de anticuerpos IgG utilizando taquizoítos muertos y fijados en láminas portaobjetos con áreas circulares, adicionando anticuerpos IgG humanos marcados con isotiocianato de fluoresceína, la lectura se puede facilitar mediante una coloración de contraste de azul de Evans (Dubey, 2010; Martin-Hernández y García-Izquierdo, 2003). La reacción se lee al microscopio de fluorescencia y la dilución más alta, en la cual se observa fluorescencia verde amarillenta en toda la periferia de los taquizoítos, se considera una reacción positiva a dicha dilución. Se considera reacción negativa cuando el parásito se observa completamente rojo o si la fluorescencia se ve localizada en uno de los extremos de los parásitos, lo que se llama fluorescencia polar (Dominges *et al.*, 1998). Este fenómeno se debe a la unión de anticuerpo IgM de *T. gondii* o reacción cruzada con IgG de otros parásitos hemoflagelados: *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania donovani* (Demonts y Remington, 1980; Franco *et al.*, 1980).

- ***Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (ELISA)***

La prueba de ELISA, detecta anticuerpos IgG para el diagnóstico de infecciones activas (Shaapan *et al.*, 2008; Hosseininejad *et al.*, 2009), se fundamenta en la reacción antígeno-anticuerpo reforzada por la adición de un complejo antígeno-anticuerpo ligado a una enzima (conjugado) que actuará sobre un sustrato obteniendo una coloración cuantificable por espectrofotometría (Dubey, 2010). Los kits comerciales de ELISA utilizan micropocillos, que contienen en el fondo un antígeno basado en taquizoítos de *T. gondii* fijados en formalina (Gamble *et al.*, 2005).

La prueba posee una sensibilidad de 90.1% y una especificidad de 85.9% demostrada en ovinos (Shaapan *et al.*, 2008). Actualmente existe variación de acuerdo al tipo de técnica y kits utilizados. García *et al.* (2006) estudiaron un ELISA indirecto utilizando Roptrias crudos de *T. gondii* como antígeno, hallando una sensibilidad de 94.3% y especificidad de 100% en porcinos infectados experimentalmente. Posteriormente, Basso *et al.* (2013) determinó una sensibilidad de 98.9% y una especificidad de 92.7% utilizando un kit comercial para la especie porcina. Asimismo, Steinparzer *et al.* (2015) comparó tres kits comerciales de ELISA en sueros de porcinos obteniendo sensibilidad de 57.3 a 65.2% y especificidad de 97.4 a 99.4%.

Cuadro 6. Pruebas ELISA desarrolladas para el diagnóstico de infección por
Toxoplasma gondii en porcinos

Tipo de ELISA (Antígeno)	Punto de Corte	Características Diagnósticas		Técnica de Comparación	Referencia
		Se*	Esp*		
Indirecto (Taquizoíto RH)	DO>0.36	94.0	92.0	DT	Lundén <i>et al.</i> , 2002
Indirecto (Taquizoíto crudo)	-	71.5	85.5	Aislamiento de <i>T. gondii</i> en felinos y ratones	Georgiadis <i>et al.</i> , 2003
Indirecto (Taquizoíto crudos)	-	88.6	98.0	Aislamiento de <i>T. gondii</i> en felinos	Gamble <i>et al.</i> , 2005
r-ELISA (Roptrias crudas)	DO≥0.30	94.3	100.0	IFI	García <i>et al.</i> , 2006
Indirecto (Taquizoíto crudo)	-	100.0	-	Aislamiento de <i>T. gondii</i> en felinos	Hill <i>et al.</i> , 2006
Indirecto (Taquizoíto crudo)	PP≥15%	98.9	92.7	IFI Western blot	Basso <i>et al.</i> , 2013
TgSAG1-ELISA (Taquizoíto P30)	-	93.1	98.8	IFI Western blot	Basso <i>et al.</i> , 2013
Indirecto (Taquizoíto crudo)	-	57.3	99.4	MAT	Steinparzer <i>et al.</i> , 2015
Indirecto (Taquizoíto crudo)	-	57.3	98.9	MAT	Steinparzer <i>et al.</i> , 2015

***Se:** Sensibilidad, ***Esp:** Especificidad, **DT:** Dye Test., **ELISA:** Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas, **MAT:** Técnica de Aglutinación Modificada, **IFI:** Reacción de Inmunofluorescencia Indirecta

La técnica de ELISA, ha mostrado claras ventajas sobre otras pruebas. Se pueden analizar mayor cantidad de muestras en forma simultánea con poco equipo sofisticado, comparado con la prueba de inmunofluorescencia, y los resultados obtenidos ofrecen mayor consistencia y confiabilidad que las obtenidas con la hemaglutinación indirecta (Waltman *et al.*, 1984). Además, puede detectar tanto infecciones recientes como latentes de toxoplasmosis, detectando simultáneamente anticuerpos IgM e IgG (Romero *et al.*, 1995).

- ***Técnica de Aglutinación Modificada (MAT)***

La técnica de aglutinación modificada fue descrita inicialmente por Fulton y Turk en 1959 y mejorada por Dubey y Desmonts en 1987 (Dubey, 2010), utiliza taquizoítos inactivados con formalina y un tampón de coloración, no requiere reactivos específicos para cada especie (Shaapan *et al.*, 2008; Macrìet *al.*, 2009). Los sueros son tratados con 2-mercaptoetanol para eliminar IgM específicas y no específicas, utilizando dos o más diluciones. Las reacciones positivas muestran una sedimentación en forma de velo cuyas características morfológicas pueden diferir de un suero a otro: velo homogéneo, granuloso o de bordes replegados, mientras que una reacción negativa se traduce en la formación de un botón de sedimentación redondo, de bordes netos (Martín-Hernández y García-Izquierdo, 2003). Esta prueba sólo detecta anticuerpos IgG; por lo tanto, puede dar resultados falsos negativos durante las primeras etapas de la infección aguda (Dubey, 1997). Posee una sensibilidad de 96% y especificidad de 88.9% (Shaapan *et al.*, 2008).

- ***Técnica de Inmunotransferencia o Inmunoblot (WB)***

Inmunoblot ha sido establecido como una prueba confirmatoria para el diagnóstico de *Toxoplasma gondii*, principalmente en infecciones congénitas (Frank *et al.*, 2008). Los sueros reaccionan con antígenos específicos de *T. gondii* y son transferidos a membranas de un gel de poliacrilamida, los resultados se representan en bandas y son comparados con patrones mediante peso molecular (Gross *et al.*, 2000). Por lo general se procesan los sueros del neonato y la madre para determinar si el anticuerpo IgG en el lactante es el resultado de una infección activa o transferencia pasiva de la madre (Remington *et al.*, 2004). La técnica posee una sensibilidad de 82.6% y una especificidad de 96.1% validada en humanos (Tissot *et al.*, 2003). Así como una sensibilidad y especificidad de 93.5 y 77.2% demostrada en cerdos infectados experimentalmente (Basso *et al.*, 2013). Esta técnica ha sido aplicada en investigaciones veterinarias tales como las realizadas por Suarez-Aranda *et al* (2000), Saavedra y Ortega (2004) y Kijlstra *et al* (2004) que analizaron sueros de porcinos.

2.12.2. Diagnóstico no serológico

- Aislamiento del parásito

El aislamiento de *Toxoplasma gondii* en cultivos celulares o en animales de experimentación supone un diagnóstico específico, pero la sensibilidad varía mucho según las condiciones de la muestra (estado de conservación, carga parasitaria, virulencia de la cepa implicada), los resultados en los cultivos celulares son más rápidos que en animales de experimentación, aunque en éstos últimos se ha observado una mayor sensibilidad. Para que los resultados sean óptimos las muestras deben mantenerse frescas, libres de contaminación y no deben congelarse en ningún momento puesto que se genera la muerte del parásito (Buxton y Maley, 2004). Las muestras que se analizan son líquido cefalorraquídeo, sangre heparinizada, y tejidos con infección aguda previamente homogenizados (Dubey, 2010).

- Examen microscópico

El diagnóstico citológico se puede realizar mediante un frotis de impresión del área lesionada, luego de secar el frotis durante 10-30 minutos se fija en metanol y se somete a tinción de Giemsa, finalmente se observa al microscopio los taquizoítos con forma de media luna (Hill y Dubey, 2002). Para el diagnóstico histopatológico las muestras remitidas son: cerebro, lengua, masetero, diafragma y corazón; que se fijan en formol al 10%, se someten a reducción y tinción con hematoxilina-eosina (García *et al.*, 2006). Los taquizoítos aparecen generalmente redondos u ovalados en el interior de una vacuola parasitófora, los quistes tisulares son esféricos, carecen de tabique y se pueden teñir con tinción de plata, además son positivos a la tinción de ácido periódico de Schiff (PAS), la microscopia electrónica puede ayudar en el diagnóstico (Hill y Dubey, 2002).

- Inmunohistoquímica (IHQ)

La Inmunohistoquímica utiliza anticuerpos para detectar antígenos específicos de *T. gondii* en cortes de tejidos observados al microscopio (Chen *et al.*, 2000). Los tejidos son fijados en formol al 10% durante 24 horas, cortes de 4-5µm de espesor son

deshidratados en etanol e incluidos en parafina, posteriormente se colocan en laminillas cubiertas con poli-L-lisina. El uso del anticuerpo primario está limitado a diferentes protocolos, de acuerdo al protocolo citado por Méndez *et al* (2011) se puede utilizar un antisuero hiperinmune caprino anti-*T. gondii*, o un anticuerpos policlonales de conejo anti-*T. gondii* para magnificar la reacción inmunológica se utiliza el complejo avidina-biotina-peroxidasa (CAB) con la finalidad de identificar estructuras con inmunopositividad a *T. gondii*. Méndez *et al* (2011) reportaron hallazgos en pulmón, hígado y cerebro de monos ardilla (*Saimiri sciureus*), donde observaron estructuras con inmunopositivada a *Toxoplasma gondii* en el interior de macrófagos alveolares, citoplasma de los hepatocitos y neurópilos.

- **Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)**

La detección directa del ADN del parásito, se basa en la técnica de la Reacción en Cadena de polimerasa (PCR), en esta, un fragmento específico del genoma es amplificado para que sea visualizado en un gel de electroforesis, en un secuenciador automático o en un software de PCR en tiempo real (Switaj *et al.*, 2005). Esta técnica se ha utilizado para la detección de la toxoplasmosis en pacientes inmunocomprometidos, infecciones congénitas y toxoplasmosis ocular (Remington *et al.*, 2004). Las muestras remitidas son: líquido amniótico, sangre, líquido cefalorraquídeo, fluido vitreo, orina, lavado broncoalveolar o diferentes tejidos (Robert-Gangneux y Laure, 2012). La sensibilidad y especificidad dependerán principalmente de la técnica apropiada de extracción del material genético, procesamiento, características de la secuencia escogida y los parámetros de la reacción de amplificación (Switaj *et al.*, 2005). La especificidad de esta prueba es de 100%, mientras que la sensibilidad depende de la extracción del ADN y la cantidad de muestra (Alfonso *et al.*, 2009).

2.13. Tratamiento

Los medicamentos más utilizados en el hombre son: espiramicina, pirimetamina, trimetoprim, sulfonamidas (Sulfadiazina, sulfametoxazol y sulfadoxina), dapsona y ácido fólico (Llop *et al.*, 2001). En mujeres embarazadas con primoinfección se recomienda aplicación de espiramicina durante el primer trimestre, luego realizar una

amniocentesis para detectar infección fetal, y en ese caso se procede a la aplicación de Sulfadiazina y pirimetamina durante el segundo y tercer tercio de gestación (Montoya y Liesenfehl, 2004). La combinación de estas drogas generalmente son bien toleradas, sin embargo pueden generar leucopenia y/o trombocitopenia, estos efectos pueden ser contrarrestados con la administración adicional de ácido folínico (Dubey, 2010).

La clindamicina es el medicamento de elección para casos de toxoplasmosis aguda en caninos y felinos debido a que atraviesa la barrera hematoencefálica, favoreciendo el tratamiento de la encefalitis y su buena absorción intestinal (Dubey y Lappin, 2000; Rojas, 2003). La dosis varía de 10-20 mg/kg/12 h, durante 2 semanas en caninos y 12,5-25 mg/kg/12 h, durante 2 semanas en felinos por vía parenteral u oral, aunque suelen producirse casos de intolerancia por esta última vía (Barrs *et al.*, 2006).

El tratamiento con ponazuril, que es utilizado en casos de mieloencefalitis protozoaria equina causada por *Sarcocystis neurona* en équidos, presenta una alta eficacia en toxoplasmosis aguda en ratones (Dabritz *et al.*, 2007).

El tratamiento en animales de producción no es recomendable por ser poco práctica, pues requiere de una prolongada administración y periodo de retiro; por otro lado, en porcinos de crianza intensiva el uso de antibióticos está restringido, además al recibir antibióticos el animal pierde su valor comercial (Dubey, 2009).

2.14. Prevención y control

Considerando que la toxoplasmosis es una zoonosis de distribución mundial, la mejor manera de abordar el problema es mediante la limitación de la exposición a los ooquistes y quistes tisulares (Elmore *et al.*, 2010).

2.14.1. Hospedador definitivo

- No alimentar con carnes crudas o mal cocidas, brindar dietas preparadas comerciales (Rojas, 2003; Vollaire *et al.*, 2005).

- La castración y buena alimentación de los gatos, les promueve hábitos sedentarios y una menor tendencia a la caza y consumo de roedores y cucarachas (Rojas, 2003).
- Limpiar diariamente los cajones de aseo de los gatos utilizando lejía (una parte de lejía en 4 partes de agua) puesto que los ooquistes pueden esporular hasta en 24 horas tras su exposición al aire (Rojas, 2003; Vollaire *et al.*, 2005).

2.14.2. En el hospedador intermediario

- En el ganado

- Evitar el ingreso de felinos domésticos o silvestres en las áreas de almacenamiento del alimento para los animales, así mismo eliminar cucarachas y moscas que pueden cumplir la función de vectores (García-Bocanegra *et al.*, 2010)
- En animales omnívoros como los porcinos, se debe retirar de inmediato los animales muertos para evitar el canibalismo, así como placenta y fetos muertos para evitar la infección de gatos y otros animales de la granja (Dubey, 2010).
- Programas de control de roedores activos deben ser alentados en estas fincas para evitar la introducción de este sistema de producción animal como un riesgo de toxoplasmosis humana emergente (Kijlstra *et al.*, 2008).
- Rotación de las canchas de parición, favoreciendo la exposición de hembras jóvenes no empadradas, a pastizales infectados con el fin de adquirir inmunidad (Leguía y Casas, 1999).
- Vacunar con parásitos vivos modificados, a las ovejas antes de la preñez para evitar infecciones congénitas (Acha y Szyfres, 2003).
- Recientemente en Bélgica se ha desarrollado una vacuna GRA1—GRA7 en porcinos con la finalidad de generar una alta inmunidad (Jongert *et al.*, 2008).

- ***En animales de zoológico***

- Colocar a los felinos en áreas alejadas de los animales, principalmente de marsupiales y primates (Dubey, 2010).
- Evitar brindarle carne cruda a los felinos (Dubey, 2010).
- Los materiales de limpieza utilizados en instalaciones de felinos salvajes debe someterse a esterilización por autoclave (Dubey, 2010).

- ***En el humano***

- Educar a las personas, informándolas de las diferentes fuentes de contagio de *Toxoplasma gondii*, así como de las precauciones que deben tomar si tienen gatos, en la cocción adecuada de las carnes, en la ingestión de derivados de lácteos y leche pasteurizada, en el tratamiento del agua y el lavado de frutas y verduras. (Acha y Szyfres, 2003).
- Las mujeres deben realizar la prueba diagnóstica antes de la gestación, y durante la misma se deben extremar las medidas preventivas (Boyeret *et al.*, 2005)
- Los niños recién nacidos deben someterse a pruebas serológicas con la finalidad de identificar infecciones subclínicas (Montoya y Remington, 2008).
- Niños de madres con alteración de títulos de anticuerpos durante la gestación, deben de ser controlados en su desarrollo psicomotriz (Rojas, 2003).
- Educar a la población, orientándolas sobre medidas de protección adecuadas, como el uso de guantes durante labores de jardinería, donde se requiera mover tierra que pueda estar contaminada con heces de gatos; a las amas de casa se les aconseja lavarse las manos luego de manipular carne cruda (Cordero del Campillo *et al.*, 1999; Mitchell *et al.*, 2006).

- Someter la carne a tratamientos de congelación a -13°C por 24 horas y/o cocinar la carne a 67°C, y no lavarla con agua no tratada (Dubey y Jones, 2008).

2.14.3. En el medio ambiente

- Educación concerniente al manejo de heces de felinos y uso de guantes, el vaciado diario de la caja de arena es un trabajo que no debe ser realizado por mujeres embarazadas, niños y personas inmunodeprimidas (Hill y Dubey, 2002).
- Los métodos de cloración, radiación ultravioleta y ozonización del agua resultan eficaces para eliminar ooquistes en el agua (Wainwright *et al.*, 2007).
- En los zoológicos es recomendable realizar programas de desratización, control de felinos domésticos y vectores mecánicos del parásito como insectos: cucarachas, moscas y escarabajos (Dubey, 2010).

La toxoplasmosis es una enfermedad potencialmente grave, pero que es en gran medida prevenible, la información brindada por los médicos humanos y veterinarios puede disminuir la transmisión de la enfermedad, así como ayudar a mantener las relaciones que muchas personas tienen con sus gatos domésticos (Elmore *et al.*, 2010).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.Lugar y Tiempo

El presente estudio se realizó en 7 granjas porcinas tecnificadas y 10 no tecnificadas, procedentes de los distritos de Huacho, Huaral, Ventanilla, Villa El Salvador, Lurin y Chilca, ubicados en la franja costera del departamento de Lima, a 12°02'37.56" de latitud sur, 77°02'22.55" de longitud oeste y a 50 m.s.n.m., durante los meses de enero a marzo de los años 2014 y 2015. El procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología y Parasitología, Sección Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ubicada en el distrito de San Borja, Lima.

3.2.Animales en estudio

Los porcinos en estudio fueron animales de ambos sexos en la etapa de acabado, 264 cerdos entre 90 a 120 Kg de peso vivo y 5 meses de edad procedentes de 7 granjas tecnificadas, así como 143 porcinos entre de 60 a 90 Kg de peso vivo y 7 meses de edad procedentes de 10 criaderos no tecnificados.

Para el presente estudio se consideró una granja tecnificada aquella en la cual los porcinos son criados utilizando adecuadas tecnologías en cuanto a sus instalaciones, manejo, nutrición, genética, sanidad y comercialización, obteniendo

mayor eficiencia y productividad; mientras que una crianza no tecnificada (traspatio, parques porcinos) fue considerada aquella en la cual los porcinos son criados en rústicas condiciones de salubridad, con una alimentación a base de residuos orgánicos, aunque algunos pueden emplear concentrados, las condiciones de manejo en general son deficientes y el objetivo de crianza es la subsistencia (Cadillo, 2008).

3.3. Tamaño muestral

El tamaño muestral se determinó mediante la fórmula de proporción de poblaciones finitas con 95% de confianza y 5% de precisión (Daniel, 1996). Se utilizó como prevalencia referencial 32.3% (Suarez-Aranda *et al.*, 2000). Por lo tanto, el tamaño muestral mínimo necesario para este estudio fue de 336 muestras. Sin embargo en el presente estudio fueron evaluadas 407 muestras.

$$n = \frac{NZ^2pq}{d^2(N - 1) + Z^2pq}$$

Donde:

n= Tamaño muestral

N= Población conocida 429`123 animales (INEI, 2013)

Z= Nivel de confianza

p= Prevalencia a utilizar

q= 1-p

d= Error esperado

3.4. Toma de muestras

Previo Consentimiento Informado (Anexo 1). Las muestras de sangre fueron colectadas en tubos de boca ancha sin anticoagulante al momento del sacrificio, durante el proceso de degüello, posteriormente transportados al Laboratorio de Parasitología (FMV-UNMSM) donde se obtuvieron los sueros por centrifugación a 800g x 5min conservándose en viales a -70°C hasta su procesamiento y análisis serológico.

3.5.Laboratorio

3.5.1. *Materiales y equipos*

- **Reactivos para Elisa indirecto:** Tampón de dilución, solución de lavado, tampón de dilución de conjugado, concentrado de conjugado, substrato cromógeno (TMB), solución de frenado, agua desmineralizada, sueros controles positivos y negativos para *Toxoplasma gondii*.
- **Materiales:** Tubos vacutainer, guantes, caja térmica, geles refrigerantes, plumones, crioviales materiales de limpieza y desinfección, vaso de precipitado, probeta, matraz Erlenmeyer, cápsula de magneto, placas sin tapizar con fondo plano de 96 pocillos, tips (10, 200 y 1000µL), cajas de tips, micropipetas monocanal y multicanal, papel parafina, tijera, papel toalla, cinta adhesiva, reservorios multicanal.
- **Equipos:** Ultracongeladora, centrifuga, homogenizador, agitador vórtex, incubadora, lector de microplacas.

3.5.2. *Determinación de anticuerpos contra T. gondii*

Para determinar la presencia de anticuerpos a *T. gondii* en porcinos se utilizó un «kit» comercial (PrioCHECK Toxoplasma Ab porcine, Prionics Ag, Zurich, Suiza), que posee una sensibilidad del 98.9% y una especificidad del 92.7% (Basso *et al.*, 2013), se siguieron las instrucciones de acuerdo al protocolo del fabricante (Anexo 3). La lectura de la absorbancia se realizó en un lector automático de ELISA con filtro de 450 nm. Para la interpretación de los resultados se calculó el Porcentaje de Positividad (PP%) y fueron considerados positivos cocientes iguales o mayores a 20%.

3.6. Análisis de la información

3.6.1. Encuesta epidemiológica

Se levantó información situacional y epidemiológica (Anexo 2) de cada granja muestreada, colectándose información de los animales como: sexo, procedencia (tecnificada/no tecnificada), densidad animal (<50, 51-100, >100 animales), fuente de agua (potable, pozo, cisterna), tipo de alojamiento (estabulado, mixto, no estabulado), presencia de felinos(ninguno, 1-3, ≥ 4 gatos)y control de roedores (si/no).

En relación a la fuente de agua, se consideró:

- **Agua potable:** Aquella que ha pasado por un proceso de purificación (potabilización), cumpliendo con las normas de calidad y distribuida por redes de tuberías para consumo humano.
- **Agua de pozo:** Obtenida de tanques o espacios profundos a base de cemento utilizado por diferentes familias.
- **Agua de cisterna:** Procedente de la municipalidad y transportada en camiones.

Respecto al tipo de alojamiento se tomó como base el estudio realizado por Klun *et al.* (2006), considerando lo siguiente:

- **Alojamiento estabulado:** Presenta confinamiento total, es decir, donde los animales no se encuentran en contacto con el medio ambiente.
- **Alojamiento mixto:** Presenta confinamiento parcial, donde una parte de los animales están expuestos al medio exterior.
- **Alojamiento no estabulado:** Los animales tienen acceso al medio ambiente.

3.6.2. *Análisis estadístico*

Con la información obtenida se creó una base de datos, donde fueron adicionados los resultados serológicos con el objeto de interrelacionarlos y validarlos estadística y epidemiológicamente. La asociación entre la seroprevalencia de *T. gondii* y cada uno de los potenciales factores asociados a su transmisión fueron analizados mediante el cálculo de Odds Ratio (OR) donde valores $p < 0.05$ evidenciaron factores de riesgo. Para ello se utilizaron múltiples modelos de regresión logística, analizados en el software estadístico STATA (Versión 12.0).

IV. RESULTADOS

La seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* fue evaluada en cerdos de Lima-Perú, mediante la técnica de ELISA indirecto, obteniéndose una seroprevalencia en cerdos procedentes de granjas tecnificadas y no tecnificadas de 4.5 ± 2.5 y $33.6 \pm 7.7\%$ al 95% de confianza respectivamente. Asimismo se detalla la seroprevalencia en porcinos de acuerdo a las variables analizadas: sexo, procedencia (tecnificada/no tecnificada), densidad animal (<50, 51-100, >100 animales), fuente de agua (potable, pozo, cisterna), tipo de alojamiento (estabulado, mixto, no estabulado), presencia de felinos (ninguno, 1-3, ≥ 4 gatos) y control de roedores (si/no) (Cuadro 7).

La asociación entre las variables independientes (posibles factores de riesgo) y la variable dependiente (seroprevalencia de *T. gondii*), mostró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre la variable Procedencia, con la seropositividad de *T. gondii*, donde la crianza no tecnificada representó 10.61 veces más riesgo de infección en comparación con una crianza tecnificada (Cuadro 7).

En el cuadro 7, observamos que existe diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el total de variables relacionadas al manejo y la seroprevalencia de *T. gondii*, donde se evidencia mayor riesgo en el suministro de agua procedente de cisternas (OR: 6.44) y los alojamientos mixto (OR: 6.14) y no estabulado (OR: 13.59).

Cuadro 7. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* y factores asociados a su transmisión en cerdos de Lima-Perú, 2015. Cálculo de OR crudo

Variable	Nº	Positivos PP≥20%	%	OR	P	IC 95%	
Sexo							
Macho	201	38	18.9	-	-	-	
Hembra	206	22	10.7	0.64	0.162	0.349	1.192
Procedencia							
Crianza Tecnificada	264	12	4.5	-	-	-	
Crianza No Tecnificada	143	48	33.6	10.61	< 0.001	5.402	20.483
Densidad animal							
<50	91	30	32.9	-	-	-	
51-100	52	18	34.6	1.08	0.841	0.524	2.21
>100	264	12	4.5	0.09	< 0.001	0.046	0.2
Fuente de agua							
Potable	205	13	6.3	-	-	-	
Pozo	67	6	8.9	1.45	0.468	0.529	3.986
Cisterna	135	41	30.4	6.44	< 0.001	3.294	12.599
Tipo de alojamiento							
Estabulado	193	6	3.1	-	-	-	
Mixto	79	13	16.5	6.14	< 0.001	2.242	16.808
No estabulado	135	41	30.4	13.59	< 0.001	5.572	33.163
Presencia de felinos							
Ninguno	229	7	3.1	-	-	-	
1 a 3	35	5	14.3	5.29	0.007	1.577	17.713
≥4	143	48	33.6	16.02	< 0.001	6.997	36.696
Control de roedores							
Si	232	11	4.7	-	-	-	
No	175	49	28.0	7.81	< 0.001	3.921	15.570

Asimismo, en el Cuadro 7, observamos diferencia significativa ($p < 0.05$) en las variables: Presencia de felinos y Control de roedores con la seropositividad de *T. gondii*, donde la convivencia con 1 a 3 gatos representó 5.29 veces mayor riesgo de infección en comparación con el estrato basal (Ningún felino), del mismo modo, la

presencia de más de 4 felinos representó 16.02 veces más el riesgo de infectarse con el parásito. Por último, la ausencia de un control de roedores representó 7.81 veces mayor riesgo de infección.

La regresión logística ajustando las variables independientes evidencia un riesgo superior en los cerdos procedentes de crianza no tecnificada. Mientras que la fuente de agua de cisterna representó un factor de protección a la infección por *T. gondii*. Las variables: Densidad animal, tipo de alojamiento, presencia de felinos y control de roedores presentaron colinealidad con la variable Procedencia (Cuadro 8).

Cuadro 8. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* y factores asociados a su transmisión en cerdos de Lima-Perú, 2015. Cálculo de OR ajustado

Variable	Nº	Positivos PP≥20%	%	OR	P	IC 95 %	
Sexo							
Macho	201	38	18.9	-	-	-	
Hembra	206	22	10.7	0.58	0.103	0.308	1.115
Procedencia							
Crianza Tecnificada	264	12	4.5	-	-	-	
Crianza No Tecnificada	143	48	33.6	241.36	< 0.001	25.185	2313.031
Fuente de agua							
Potable	205	13	6.3	-	-	-	
Pozo	67	6	8.9	2.97	0.068	0.921	9.585
Cisterna	135	41	30.4	0.05	0.007	0.006	0.455

En el Cuadro 9, se detalla la seroprevalencia de *T. gondii* en cerdos de diferentes regiones de Lima-Peru, donde se observa una prevalencia superior en los cerdos de los distritos de Ventanilla (35.2%), Villa El Salvador (28.9%), procedentes de crianza no tecnificada. Por otro lado, en el caso de la crianza tecnificada, se halló una mayor prevalencia en las regiones de Huaral (9.2%) y Lurin (6.1%).

Cuadro 9. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en cerdos de diferentes regiones de Lima-Perú, 2015

Procedencia	Nº	Positivos PP \geq 20%	%
Granja Tecnificada			
Huacho	67	-	-
Huaral	65	6	9.2
Villa El Salvador	32	1	3.1
Lurin	66	4	6.1
Chilca	34	1	2.9
TOTAL	264	12	4.5
Crianza No Tecnificada			
Ventanilla	105	37	35.2
Villa El Salvador	38	11	28.9
TOTAL	143	48	33.6

V. DISCUSIÓN

La toxoplasmosis es una zoonosis parasitaria de distribución mundial, que afecta a la mayoría de vertebrados de sangre caliente (Jungersen *et al.*, 2002), la infección en humanos se produce principalmente por el consumo de carne cruda o poco cocida (Dubey y Jones, 2008), siendo la carne de cerdo infectada con *Toxoplasma gondii*, una fuente de diseminación del parásito para los seres humanos y animales de varios países (Dubey, 2009).

En el Cuadro 7, observamos los resultados serológicos del presente estudio, donde se demuestra una seroprevalencia de *T. gondii* en cerdos de granjas tecnificadas de $4.5 \pm 2.5\%$, resultado similar a lo mostrado por Suárez-Aranda *et al.* (2000), Carletti *et al.* (2005), Romero *et al.* (2007), Balboa (2008), Gebreyes *et al.* (2008), y Alvarado-Esquivel *et al.* (2011), en granjas de São Paulo (9.6%), Paraná (4.0%) de Brasil, Venezuela (9.4%), Chile (8.8%), EEUU (4.1%) y México (12.7%) respectivamente. Un argumento que explique una seroprevalencia baja se debe a una mayor tecnificación y nuevas medidas sanitarias aplicadas en la crianza porcina durante los últimos 15 años (Carletti *et al.*, 2005), asimismo el periodo corto de permanencia en una granja disminuye la probabilidad de infección con *T. gondii* (Dubey *et al.*, 1995).

Por otro lado, cabe mencionar que en las décadas del 50 y 60 la crianza porcina en Perú estaba poco desarrollada (Farro *et al.*, 2002), y ha mejorado progresivamente, como se observa en el estudio serológico realizado por Bustamante y Suárez (2000) que evidenciaron una cifra de 25.2% en cerdos procedentes de granjas tecnificadas. Además, actualmente el desarrollo de la industria porcina exige un óptimo

estado sanitario, por lo que la toxoplasmosis habría sido parcialmente controlada de las granjas tecnificadas, como se puede observar en el presente estudio.

Asimismo, se observa una seroprevalencia de *T. gondii* en cerdos procedentes de crianza no tecnificada de $33.6 \pm 7.7\%$, similar a lo reportado por Suárez-Aranda *et al.* (2000) así como Saavedra y Ortega (2004) que hallaron una seroprevalencia de 32.3 y 27.7% respectivamente, y superior a lo observado por Bustamante y Suárez (2000) en crianzas de traspatio (14.84%). Esta alta seroprevalencia se debe al deficiente manejo sanitario y tecnológico que se desarrolla en estas crianzas, donde los conocimientos son empíricos y transmitidos por varias generaciones debido a que representa una fuente de ingreso familiar. Asimismo, la alimentación de los cerdos se basa en la mezcla de residuos alimenticios provenientes de restaurantes y de la cocina familiar, subproductos agroindustriales y residuos de la agricultura (DIGESA, 2002), dichos residuos atraen a roedores y felinos domésticos, los cuales pueden transmitir diversos parásitos, entre ellos *T. gondii*.

La manifestación de la infección por *T. gondii* presenta un carácter multifactorial. Es así que se evaluaron diversos factores asociados a su transmisión en cerdos de granjas tecnificadas y no tecnificadas de Lima-Perú. En relación a la variable sexo (Cuadro 7) no se observó diferencia significativa ($p > 0.05$), lo que sugiere que tanto machos como hembras presentan la misma posibilidad de infección. Resultado similar a lo descrito por Fábregas *et al.* (2006) y Villari *et al.* (2009), atribuido principalmente a la edad de sacrificio, que en ambos tipos de crianzas, los animales son enviados por lotes al matadero, por lo tanto es evidente suponer que la mayoría posee aproximadamente la misma edad al momento del beneficio.

La variable procedencia (Cuadro 7) evidenció una distribución de la infección de *T. gondii* superior en los cerdos obtenidos de crianzas no tecnificadas, donde se observó que esta representa 10.61 veces mayor riesgo en comparación con los cerdos criados en granjas tecnificadas. Estudios realizados en el Perú son escasos, es así que Bustamante y Suárez (2000) realizaron una comparación entre ambos tipos de crianzas donde hallaron una mayor frecuencia en cerdos criados en granjas tecnificadas (25.16%) y menor en crianzas no tecnificadas (14.84%), un hallazgo influenciado por el acceso de

felinos a las diferentes instalaciones de las granjas tecnificadas, este resultado diferente al obtenido en el presente trabajo, que se explica por medio del manejo realizado en las crianzas no tecnificadas (traspatio o parques porcinos), donde los animales son alimentados con residuos gastronómicos y materiales orgánicos, en la mayoría de casos, sin tratamiento térmico (Cadillo, 2008), además de estar mantenidos a campo abierto, donde entran en contacto con otras especies de animales (felinos, roedores, aves silvestres) y expuestos a diferentes agentes infecciosos.

En cuanto a la densidad animal (Cuadro 7), no se observó diferencia significativa ($p>0.05$) en crianzas que poseen entre 51 a 100 animales, por otro lado un número mayor de 100 animales representa un factor protector, es decir que protege a los animales expuestos a *T. gondii*. Villari *et al* (2009) menciona que a mayor número de animales, existe una mayor industrialización y por lo tanto menor exposición al medio ambiente, mientras que un menor número de animales se observa en pequeñas crianzas como las de traspatio. Además Weigel *et al* (1995) sugiere que un menor número de animales en el hato se asocia a mayor riesgo de exposición para cada cerdo debido a que cada factor de riesgo se distribuye por cada animal.

En relación a la fuente de agua (Cuadro 7), animales que consumen agua procedente de cisterna presentaron 6.44 veces más riesgo que aquellos que recibieron agua potable. Este resultado se explica debido a que tanto en crianzas de traspatio como en algunas granjas tecnificadas, se utilizaba agua de cisterna, extraída de acéquias y ríos, que se destinaba para consumo de los animales y limpieza de las instalaciones. Las aguas servidas presentan mayor probabilidad de estar contaminados con ooquistes de *T. gondii* así como otros agentes infecciosos, debido a que no reciben ningún tipo de tratamiento. Bahia-Oliveira *et al.* (2003) obtuvieron un resultado similar en personas que consumían aguas servidas, cuyo riesgo de seropositividad era 3 veces superior de aquellas personas que trataban el agua. Por otro lado, está demostrado que existe una correlación positiva entre el consumo de agua sin tratamiento y la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* en cerdos criados en malas condiciones higiénicas (Sroka *et al.*, 2006), lo que proporciona un riesgo potencial de infección en base al consumo de agua en los cerdos y humano. Además, para prevenir la contaminación de la fuente de agua, se debe controlar constantemente la presencia de felinos en dicha zona (Dubey, 2004).

Respecto a la variable tipo de alojamiento (Cuadro 7), se evidenció diferencia significativa ($p < 0.05$), obteniendo un alto riesgo en los animales mantenidos en alojamientos mixtos (OR: 6.14) y no estabulados (13.59). Estos resultados son superiores a los reportados por Klun *et al.* (2006) donde señalan que los cerdos criados al aire libre presentan el doble de riesgo de infección que aquellos criados en confinamiento. Por lo tanto, el sistema de alojamiento es una variable importante a considerar como factor de riesgo (García-Bocanegra *et al.*, 2010), debido a que permite evaluar el posible contacto de los cerdos a otros factores de riesgo, como felinos domésticos y roedores aumentando la probabilidad de infección por ooquistes y quistes *tisulares* respectivamente (Venturini *et al.*, 2004).

La presencia de felinos domésticos en crianzas porcinas es el principal factor de riesgo asociado a la seroprevalencia de *T. gondii*, estudios epidemiológicos sugieren que los gatos son esenciales para el mantenimiento de la infección a través de la eliminación de ooquistes y la contaminación del alimento y el agua (Lehmann *et al.*, 2003; Meerburg *et al.*, 2006). Al evaluar esta variable en el presente estudio (Cuadro 7) se observó diferencia significativa ($p < 0.05$), donde existe riesgo en la tenencia de 1 a 3 felinos (OR: 5.29), así como la convivencia con más de 4 gatos (OR: 16.02). Estos resultados son similares a los reportados por García-Bocanegra *et al.* (2010) donde la presencia de gatos en la crianza de cerdos presenta 11.3 veces más riesgo que aquellas granjas donde estos animales están ausentes. Asimismo, en base al análisis de encuestas epidemiológicas, la crianza de más de 3 gatos en una granja representan 3.24 veces más riesgo de infección con *T. gondii* (Meerburg *et al.*, 2006).

Respecto a la variable Control de roedores (Cuadro 7), se observó diferencia significativa ($p < 0.05$), observando que los cerdos criados en granjas donde no se aplica control de roedores presentan 7.81 veces mayor probabilidad de infección de *T. gondii* que aquellos criados bajo un control regular. Diferentes estudios reportan que el control de roedores se asocia significativamente con la seroprevalencia de *T. gondii* (Hill *et al.*, 2009; Villari *et al.*, 2009; García-Bocanegra *et al.*, 2010). Durante la aplicación de la encuesta epidemiológica se obtuvo que en algunas granjas tecnificadas se utilizaba

unicamente un control químico (rodenticidas); sin embargo la aplicación se realizaba cuando se detectaba infestación, además debemos considerar que los roedores son animales inteligentes que desconfían de los cambios en su hábitat, así también presentan jerarquías que los obliga a utilizar animales como carnada aprendiendo de experiencias ajenas, como la aversión al cebo (Moreno *et al.*, 2004); asimismo las granjas aleñaas no realizaban control de roedores, por lo que no mejoraba la situación. Un grupo de crianzas medianamente tecnificadas, así como crianzas de traspatio no realizaban un verdadero control de roedores y consideraban la tenencia de felinos como única solución. Tsutsui *et al.* (2003) menciona que la presencia de roedores representa un alto riesgo de infección, debido a que estos animales tienen acceso al área de alimentos y de producción. Además, en un estudio realizado en 215 roedores capturados de granjas porcinas con alto grado de infección, se detectó ADN de *Toxoplasma gondii* en tejido cardiaco y cerebral, lo que coloca en evidencia la importancia de los roedores como reservorios de *T. gondii* (Kijlstra *et al.*, 2008).

El ajuste de las variables independientes (Cuadro 8) evidenció colinealidad entre las variables: Densidad animal, tipo de alojamiento, presencia de felinos y control de roedores con la variable Procedencia, debido a que según las encuestas epidemiológicas, una crianza no tecnificada presenta un número reducido de animales, alojamiento no estabulado, mayor cantidad de felinos deambulando por los alrededores y no aplican control de roedores. En relación a la variable Procedencia, la crianza no tecnificada mantiene un riesgo superior respecto a la crianza no tecnificada, reforzando lo expuesto anteriormente. Sin embargo, la fuente de agua de cisterna representó un factor protector a la infección por *T. gondii*. Esto se puede deber a que durante la aplicación de la encuesta epidemiológica, los diferentes propietarios presentaban bastante desconfianza, modificando sus respuestas a fin de no exponerse a posibles sanciones, lo que llevó a una alteración de las variables relacionadas a la fuente de agua. Este resultado difiere a lo reportado por Bahia-Oliveira *et al.* (2003) y Villari *et al.* (2009), quienes hallaron mayor riesgo de infección a *T. gondii* al consumir aguas servidas y de pozos, respectivamente. Sin embargo, cabe mencionar que en el presente estudio, los resultados del análisis crudo de las variables pozo y cisterna (aguas servidas) coinciden con estos dos trabajos de investigación.

Los resultados obtenidos en el presente estudio constituyen un aporte valioso para evaluar la situación de la toxoplasmosis porcina en Lima-Perú, y tomar las medidas de control adecuadas, incrementando el estado sanitario principalmente de las crías no tecnificadas que presentan un manejo deficiente de los animales y el medio ambiente. Cabe mencionar que la toxoplasmosis es una parasitosis cosmopolita y difícil de erradicar en una determinada región, lo que demanda la difusión del conocimiento sobre la enfermedad a los criadores de cerdos y personas que laboran en esa área. Considerando que durante la aplicación de la encuesta epidemiológica los dueños y trabajadores tenían desconocimiento sobre el parásito y su importancia en la salud pública.

VI. CONCLUSIONES

- La seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en cerdos de granjas tecnificadas y no tecnificadas de Lima-Perú es de 4.5 y 33.6% respectivamente.
- Los factores asociados a la transmisión de *T. gondii* en cerdos de Lima-Perú son la procedencia no tecnificada OR 10.61, fuente de agua cisterna OR 6.44, tipo de alojamiento mixto OR 6.4 y no estabulado OR 13.59, la presencia de felinos de 1 - 3 OR 5.29 y ≥ 4 animales OR 16.02 y el control de roedores OR 7.81 ($p < 0.05$).
- El sexo y la densidad animal no influyeron en la seropositividad a *T. gondii* ($p > 0.05$).

VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar descartes de *Toxoplasma gondii* en los cerdos de granjas tecnificadas, mediante pruebas serológicas de alta especificidad como ELISA indirecto, con la finalidad de evaluar el estado sanitario de los animales antes de la saca.
- Los trabajadores de crianzas no tecnificadas desconocen multiples enfermedades en cerdos y su impacto en la salud pública, en ese sentido se debe desarrollar en coordinacion con órganos locales, charlas de capacitación relacionados a estos temas, a fin de establecer programas de control enfocados en factores de riesgo.
- Para un analisis más amplio de la toxoplasmosis porcina y los factores asociados a su transmisión, se deben realizar estudios serológicos en los felinos y roedores que tienen accesos a las diferentes instalaciones y correlacionarlos con los resultados serológicos de los cerdos.

VIII. LITERATURA CITADA

1. **Acha P, Szyfres B. 2003.** Zoonosis y Enfermedades Transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2ª ed. Washington: OPS. 413 p.
2. **Afonso E, Thulliez P, Gilot-Fromont E. 2006.** Transmission of *Toxoplasma gondii* in an urban population of domestic cats (*Felis catus*). Int J Parasitol 36: 1373-1382.
3. **Afonso E, Lemoine M, Poulle ML, Ravat MC, Romand S, Thulliez P, Villena I, Aubert D, Rabilloud M, Riche B, Gilot-Fromont E. 2008.** Spatial distribution of soil contamination by *Toxoplasma gondii* in relation to cat defecation behaviour in an urban area. Int J Parasitol 38: 1017-1023.
4. **Alfonso Y, Fraga J, Jiménez N, Fonseca C, Dorta-Contreras AJ, Cox R, Capó V, Bandera F, Pomier O, Ginorio D. 2009.** Detection of *Toxoplasma gondii* in cerebrospinal fluid from AIDS patients by nested PCR and rapid identification of type I allele at B1 gene by RFLP analysis. Exp Parasitol 122: 203-207.

5. **Aliberti J, Serhan C, Sher A. 2002.** Parasite-induced lipoxin A4 is an endogenous regulator of IL-12 production and immunopathology in *Toxoplasma gondii* infection. J Exp Med 196: 1253-1262.

6. **Alvarado-Esquivel C, García-Machado C, Alvarado-Esquivel D, González-Salazar AM, Briones-Fraire C, Vitela-Corrales J, Villena I, Dubey JP. 2011.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic pigs in Durango State, Mexico. J Parasitol 97(4): 616-619.

7. **Alves T, De Lima R. 2004.** Encephalitis caused by *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs. Clín Vet 48: 44-52.

8. **Amendoeira MRR, Sobral CAQ, Teva A, de Lima JN, Klein CH. 2003.** Inquerito sorológico para a infecção por *Toxoplasma gondii* em ameríndios isolados, Mato Grosso. Rev Soc Bras Med Trop 36: 671-676.

9. **Antolová D, Reiterová K, Dubinský P. 2007.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild boars (*sus scrofa*) in the slovak republic. Ann Agric Environ Med 14: 71-73.

10. **Anyarat T, Wandee K, Umai B, Teeraphun B, Somsak A. 2006.** Toxoplasmosis in Piglets. Ann NY Acad Sci: 1081: 336-338.

11. **Aramini JJ, Stephen C, Dubey JP. 1998.** *Toxoplasma gondii* in Vancouver Island cougars (*Felis concolor vancouverensis*): serology and oocyst shedding. J Parasitol 84: 438-440.

12. **Arko-Mensah J, Bosompem KM, Canacoo EA, Wastling JM, Akanmori BD. 2000.** The seroprevalence of toxoplasmosis in pigs in Ghana. Act Trop. 76: 27-31.

13. **Atías A. 1994.** Parasitología Clínica. 3ª ed. Santiago de Chile: Publicaciones Mediterráneo. 615p.

14. **Azevedo SS, Pena HFJ, Alves CJ, Guimarães AAM, Maksimov P, Schares G, Gennari SM. 2009.**Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in swine from northeastern Brazil. Rev Bras Parasitol 19(2): 80-84.
15. **Bahia-Oliveira LMG, Jones JL, Azevedo-Silva J, Alves CCF, Orefice F, Addison DG. 2003.** Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in North Rio de Janeiro State, Brazil. Emerg Infect Dis. 9: 55-62.
16. **Balboa J. 2008.**Evaluación serológica del *Toxoplasma gondii* en suinos mediante la prueba de ELISA en plantas faenadoras de la IX y XIV regiones de Chile. Tesis de Médico Veterinario. Valdivia: Univ. Austral de Chile. 25p.
17. **Barrs VR, Martin P, Beatty JA. 2006.** Antemortem diagnosis and treatment of toxoplasmosis in two cats on cyclosporin therapy. Aust Vet J84: 30-35.
18. **Bártová E, Sedlák K, Literák I. 2006.**Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in wild boars in the Czech Republic. Vet Parasitol 142: 150-153.
19. **Basso W, Hartnack S, Pardini L, Maksimov P, Koudela B, Venturini MC, Schares G, Sidler X, Lewis F, Deplazes P. 2013.** Assessment of diagnostic accuracy of a commercial ELISA for the detection of *Toxoplasma gondii* infection in pigs compared with IFAT, TgSAG1-ELISA and Western blot, using a Bayesian latent class approach. Int J Parasitol 43 (7): 565-570.
20. **Becerril MA. 2008.** Parasitología Médica. 2^a ed. México: McGraw-Hill. 308p.

21. **Borbolla M, Izquierdo R, Piña O, Martinez G, Lopez D, Ulan J. 2005.** Taquizoítos de *Toxoplasma gondii*. Salud Tab 11(3): 394-399.

22. **Boyer KM, Holfels E, Roizen N, Swisher C, Mack D, Remington J, Withers S, Meier P, McLeod R. 2005.** Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in mothers of infants with congenital toxoplasmosis: implications for prenatal management and screening. Am J ObstetGynecol 192: 564-71.

23. **Brown CR, Hunter CA, Estes RG, Beckmann E, Forman J, David C, Remington J S, McLeod R. 1995.**Definitive identification of a gene that confers resistance against *Toxoplasma* cyst burden and encephalitis. Immunol 85:419-428.

24. **Bustamante J, Suárez A. 2000.**Estudio comparativo de frecuencias de toxoplasmosis en porcinos procedentes de crianza tecnificada y no tecnificada.Rev Inv Vet Perú 11(1): 32-39.

25. **Buxton D, Innes EA. 1995.** A commercial vaccine for ovine toxoplasmosis. Parasitol110 (Suppl.1): 1-16.

26. **Buxton D, Maley SW. 2004.** Toxoplasmosis. En: Vallat B, Edwards S. Manual de pruebas de diagnóstico y vacunas para los animales terrestres. p 1202-1209.

27. **Buzoni-Gatel D, Schulthess J, Menard LC, Kasper LH. 2006.** Mucosal defences against orally acquired protozoan parasites, emphasis on *Toxoplasma gondii* infections. Cell Microbiol 8: 535-544.

28. **Cadillo J. 2008.** Producción de Porcinos. Porcicultura formal: Rentabilidad y oportunidad de exportación. [Internet], [20 de febrero del 2015].Disponible en: <http://goo.gl/oa0inp>.

29. **Carletti RT, Freire RL, Shimada MT, Ruffolo BB, Begale LP, Ruiz FM, Navarro IT. 2005.** Prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos abatidos no Estado do Paraná, Brasil. Ciênc Agr Lond 26(4): 563-568.

30. **Cavalcante GT, Aguiar DM, Chiebao D, Dubey JP, Ruiz VLA, Dias RA, Camargo LMA, Labruna MB, Gennari SM. 2006.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* Antibodies in Cats and Pigs From Rural Western Amazon, Brazil. J Parasitol 92(4): 863-864.

31. **Chandrawathani P, Nurulaini R, Zanin CM, Premaalatha B, Adnan M, Jamnah O, Khor SK, Khadijah S, Lai SZ, Shaik MAB, Seah TC, Zatil SA. 2008.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in pigs, goats, cattle, dogs and cats in peninsular Malaysia. Trop Biomed 25: 257-258.

32. **Chávez-Velásquez A, Álvarez-García G, Gómez-Bautista M, Casas-Astos E, Serrano-Martínez E, Ortega-Mora LM. 2005.** *Toxoplasma gondii* infection in adult llamas (*Lama glama*) and vicunas (*Vicugna vicugna*) in the Peruvian Andean regions. Vet Parasitol 130: 93-97.

33. **Chen M, Aosai F, Mun HS, Norose K, Hata H, Yano A. 2000.** Anti-ASP 70 autoantibody formation by B-1 cells in *Toxoplasma gondii* - infected mice. Infection and Immunity 68:4893-4899.

34. **Cordero del Campillo M, Rojo-Vásquez F, Martínez A, Sánchez M. 1999.** Parasitología Veterinaria. Madrid: McGraw-Hill Interamericana. 968 p.

35. **Correa R, Cedeño I, de Escobar C, Fuentes I. 2008.** Increased urban seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infecting swine in Panama. Vet Parasitol 153: 9-11.

36. **Coughlan, SN, Saman E, Jacobs D, Mercier C, Cesbron-Delauw MF, Trees AJ. 1995.** Cellular and humoral immune responses to recombinant antigens in sheep infected with *Toxoplasma gondii*. *Parasite Immunol*17: 465-468.

37. **Dabritz HA, Miller MA, Atwill ER, Gardner IA, Leutenegger CM, Melli AC, Conrad PA. 2007.** Detection of *Toxoplasma gondii*-like oocysts in cat feces and estimates of the environmental oocyst burden. *J Am Vet Med Assoc* 231(11): 1675-1684.

38. **Damriyasa IM, Bauer C. 2005.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in sows in Münsterland, Germany. *Dtsch TierärztlWschr* 112: 223-224.

39. **Damriyasa IM, Bauer C, Edelhofer R, Failing K, Lind P, Petersen E, Schares G, Tenter AM, Volmer R, Zahner H. 2004.** Cross-sectional survey in pig breeding farms in Hesse, Germany: seroprevalence and risk factors of infections with *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis* spp. and *Neospora caninum* in sows. *Vet Parasitol* 126: 271-286.

40. **Daniel W. 1996.** Bioestadística: base para el análisis de la ciencia de la salud. 5^a ed. México: Limusa. p 205-207.

41. **Desmonts G, Remington JS. 1980.** Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method increasing: sensitivity and specificity. *J Clin Microbiol* 11: 562-568.

42. **Desmonts, G, Couvreur J, Alison F, Baudelot J, Gerbeaux J. Lelong M. 1965.** Etude épidémiologique sur la toxoplasmose: de l'influence de la cuisson des viandes de boucherie sur la fréquence de l'infection humaine. *Rev Fr Études Clin Biol*10: 952-958.

43. **de Buhr K, Ludewig M, Fehlhaber K. 2008.***Toxoplasma gondii*-seroprevalence- current results in German swine herds. Arch Lebensmittelhygiene 59: 5-8.
44. **de Sousa S, Ajzenberg D, Canada N, Freire L, Correia da Costa JM, Dardé ML, Thulliez P, Dubey JP. 2006.**Biologic and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from pigs from Portugal. Vet Parasitol 135: 133-136.
45. **Díaz O, Esteves J, García M, Cheng R, AraujoJ. 2003.** Seroepidemiología de la Toxoplasmosis en una comunidad indígena Yucpa de la Sierra de Perijá, Estado Zulia Venezuela.RevMed Chile 131: 1003-1010.
46. **[DIGESA] Dirección General de Salud Ambiental y Dirección Ejecutiva de Higiene Alimentaria y Control de Zoonosis. 2002.** Guía para la crianza sanitaria de cerdos. Lima: DIGESA. 42 p.
47. **Domingues LM, Machado RZ, Tinucci Costa M, Carvalho CS, Costa AJ, Malheiros EB. 1998.**Canine toxoplasmosis: A comparative evaluation of the detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies by the indirect immunoenzymatic assay (ELISA) and the indirect immunofluorescence reaction (IIF). Rev Bras Parasitol Vet 7(2): 79-85.
48. **Dubey JP. 1976.** Re-shedding of *Toxoplasma* oocysts by chronically infected cats. Nature 262: 213-214.
49. **Dubey JP. 1994.** Toxoplasmosis. J Am Vet Med Assoc 205: 1593-1598
50. **Dubey JP. 1997.** Validation of the specificity of the modified agglutination test for toxoplasmosis in pigs. Vet Parasitol71: 307-310.

51. **Dubey JP. 2001.** Oocyst shedding by cats fed isolated bradyzoites and comparison of infectivity of bradyzoites of the VEG strain *Toxoplasma gondii* to cats and mice. J Parasitol 87: 215-219.
52. **Dubey JP. 2002.** A review of toxoplasmosis in wild birds. Vet Parasitol 106: 121-153.
53. **Dubey JP. 2004.** Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. Vet Parasitol 126: 57-72.
54. **Dubey JP. 2006.** Comparative infectivity of oocysts and bradyzoites of *Toxoplasma gondii* for intermediate (mice) and definitive (cats) hosts. Vet Parasitol 140: 69-75.
55. **Dubey JP. 2007.** The History of *Toxoplasma gondii*—The First 100 Years. J. Eukaryot. Microbiol 55(6): 467-475.
56. **Dubey JP. 2009.** Toxoplasmosis in pigs-The last 20 years. Vet Parasitol 164: 89-103.
57. **Dubey JP. 2010.** Toxoplasmosis of animals and humans. 2a ed. Maryland: CRC Press. 336 p.
58. **Dubey JP, Frenkel JK. 1976.** Feline toxoplasmosis from acutely infected mice and the development of *Toxoplasma* cysts. J Protozool 23: 537-546.
59. **Dubey JP, Beattie CP. 1988.** Toxoplasmosis of Animals and Man. Boca Raton: CRC Press. p 1-220.
60. **Dubey JP, Urban JF. 1990.** Diagnosis of transplacentally induced toxoplasmosis in pigs. Am J Vet Res 51: 1295-1299.

61. **Dubey JP, Carpenter JL. 1993.** Neonatal toxoplasmosis in littermate cats. *J Am Vet Med Assoc* 203: 1546-1549.
62. **Dubey JP, Thulliez P. 1993.** Persistence of tissue cysts in edible tissues of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Am J Vet Res* 54: 270-273.
63. **Dubey JP, Lindsay DS. 1996.** A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet Parasitol* 67:1-59.
64. **Dubey J, Lappin M. 2000.** Toxoplasmosis y Neosporosis. En: *Enfermedades infecciosas en perros y gatos*. 2^a ed. México: McGraw Hill Interamericana. p 493-503.
65. **Dubey JP, Jones JL. 2008.** *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *Int J Parasitol* 38: 1257-1278.
66. **Dubey JP, Miller S, Powell EC, Anderson WR, 1986.** Epizootiologic investigations on a sheep farm with *Toxoplasma gondii*-induced abortions. *J Am Vet Med Assoc* 188: 155-158.
67. **Dubey JP, Lappin MR, Thulliez P. 1995.** Long-term antibody responses of cats fed *Toxoplasma gondii* tissue cysts. *J Parasitol* 81: 887-893.
68. **Dubey JP, Thulliez P, Weigel RM, Andrews CD, Lind P, Powell EC. 1995.** Sensitivity and specificity of various serologic tests for detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sows. *Am J Vet Res* 56(8): 1030-1036.
69. **Dubey JP, Weigel MR, Siegel AM, Thulliez P, Kitron UD, Mitchell MA, Mannelli A, Mateus-Pinilla NE, Shen SK, Kwok OC, Todd SC. 1995.** Sources and reservoirs of *Toxoplasma gondii* infection on 47 swine farms in Illinois. *J Parasitol Lawr* 81: 723-729.

70. **Dubey JP, Andrews CD, Lind P, Kwok OCH, Thulliez P, Lunney JK. 1996.** Antibody responses measured by various serologic tests in pigs orally inoculated with low numbers of *Toxoplasma gondii* oocysts. Am J Vet Res 57: 1733-1737.

71. **Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. 1998.** Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. Clin Microbiol Rev 11(2): 267-299.

72. **Dubey JP, Gamble HR, Hill D, Sreekumar C, Romand S, Thulliez P. 2002.** High prevalence of viable *Toxoplasma gondii* infection in market weight pigs from a farm in Massachusetts. J Parasitol 88: 1234-1238.

73. **Dubey JP, Hill DE, Jones, JL, Hightower AW, Kirkland E, Roberts JM, Marcet PL, Lehmann T, Vianna, MCB, Miska K, Sreekumar C, Kwok OCH, Shen SK, Gamble HR. 2005.** Prevalence of viable *Toxoplasma gondii* in beef, chicken, and pork from retail meat stores in the United States; risk assessment to consumers. J Parasitol 91:1082-1093.

74. **Dubey JP, Su C, Cortes JA, Sundar N, Gomez-Marin JE, Polo LJ, Zambrano L, Mora LE, Lora F, Jimenez J, Kwok OCH, Shen SK, Zhang X, Nieto A, Thulliez P. 2006.** Prevalence of *Toxoplasma gondii* in cats from Colombia, South America and genetic characterization of *T. gondii* isolates. Vet Parasitol 141: 42-47.

75. **Dubey JP, Hill DE, Sundar N, Velmurugan GV, Bandini LA, Kwok OCH, Pierce V, Kelly K, Dulin M, Thulliez P, Iwueke C, Su C. 2008.** Endemic toxoplasmosis in pigs on a farm in Maryland: isolation and genetic characterization of *Toxoplasma gondii*. J Parasitol 94: 36-41.

76. **Dubey JP, Newell TK, Verma SK, Calero-Bernal R, Stevens EL. 2014.** *Toxoplasma gondii* Infection in Llama (*Llama glama*): Acute Visceral Disseminated Lesions, Diagnosis, and Development of Tissue Cysts. J Parasitol 100(3): pp. 288-295.
77. **Dumètre A, Le Bras C, Baffet M, Meneceur P, Dubey JP, Derouin F, Duguet JP, Joyeux M, Moulin L. 2008.** Effects of ozone and ultraviolet radiation treatment on the infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts. Vet Parasitol 153: 209-213.
78. **Dunay IR, Fuchs A, Sibley LD. 2010.**Inflammatory monocytes but not neutrophils are necessary to control infection with *Toxoplasma gondii* in mice. Infect Immun 78: 1564-1570.
79. **Edelhofer R, Aspöck H. 1996.** Infektionsquellen und Infektionswege aus der Sicht des Toxoplasmose-Screenings der Schwangeren in Österreich. Mitt ÖsterrGes Tropenmed Parasitol 18: 59-70.
80. **Elmore SA, Jones JL, Conrad PA, Patton S, Lindsay DS, Dubey JP. 2010.** *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. Trends Parasitol 26: 190-196.
81. **Fábregas IC, Borges F, da Costa T, Trigueiro R, Santiago CAD, Nicolau JL, Batista L, Riddell P, Gatti L, Reis MR. 2006.**Estudo soroepidemiológico da infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos e frangos, para abate, em região rural do Rio de Janeiro. R Bras Ci. Vet 13(3): 186-189.
82. **Fan CK, Su KE, Tsai YJ. 2004.** Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection among slaughtered pigs in northwestern Taiwan. J Parasitol 90: 653-654.

83. **Farrell R, Docton F, Chamberlain D, Cole C. 1952.** Toxoplasmosis isolated from swine. Am J Vet Res 13: 181-185.
84. **Farro D, Falcón N, Manchego A, Rivera H. 2002.** Frecuencia de *Brucella* sp. en porcinos, procedentes de granjas tecnificadas y no tecnificadas, beneficiados en dos mataderos de lima. Rev Inv Vet Perú 13 (2): 72-77.
85. **Fehlhaber K, Hintersdorf P, Krüger G. 2003.** Prävalenz von *Toxoplasma gondii*. Untersuchungen bei Schlachtschweinen aus verschiedenen Haltungsformen und in handelsüblichen Hackfleischproben. Fleischwirtschaft 83: 97-99.
86. **Fernández-Baca S. 1991.** Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. Fernández-Baca S, S. (ed). p 9-10. FAO. Santiago de Chile.
87. **Fialho CG, Araujo FAP. 2003.** Detecção de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soro de suínos criados e abatidos em frigoríficos da região da grande Porto Alegre-RS, Brasil. Ciência Rural Santa Maria 33(5): 893-897.
88. **Filisetti D, Candolfi E. 2004.** Immune response to *Toxoplasma gondii*. Ann Ist Super Sanità 40(1): 71-80
89. **Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann TR, Howard M, O'Garra A. 1991.** IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. J Immunol 147:3815-3822.
90. **Fornazari F, Langoni H, Silva RC, Guazzelli A, Ribeiro MG, Chiacchio SB. 2009.** *Toxoplasma gondii* infection in wild boars (*Sus scrofa*) bred in Barazil. Vet Parasitol 164 (2-4): 333-334.

91. **Franck J, Garin YJ, Dumon H. 2008.** LDBio-Toxo II immunoglobulin G Western blot confirmatory test for anti-*Toxoplasma* antibody detection. J Clin Microbiol 46: 2334-2338.
92. **Franco EL, Sulzer AJ, Higby RW, Peralta JM. 1980.** Immunoglobulin G and Immunoglobulin M polar staining of *Toxoplasma gondii* in the indirect immunofluorescence test. J Clin Microbiol 12: 780-784.
93. **French AR, Holroyd EB, Yang L, Kim S, Yokoyama WM. 2006.** IL-18 acts synergistically with IL-15 in stimulating natural killer cell proliferation. Cytokine 35:229-234.
94. **Frenkel JK. 1990.** Transmission of toxoplasmosis and the role of immunity in limiting transmission and illness. J Am Vet Med Assoc 196: 233-40.
95. **Frenkel JK, Ruiz A, Chinchilla M. 1975.** Soil survival of *Toxoplasma* oocysts in Kansas and Costa Rica. Am J Trop Med Hyg 24: 439-443.
96. **Funada MR, Pena HFJ, Soares RM, Amaku M, Gennari SM. 2007.** Frequencia de parasitos gastrintestinais em caes e gatos atendidos em hospital-escola veterinario da cidade de Sao Paulo. Arq Bras Med Vet Zootec59: 1338-1340.
97. **Gamble HR, Dubey JP, Lambillotte DN. 2005.** Comparison of a commercial ELISA with the modified agglutination test for detection of *Toxoplasma* infection in the domestic pig. Vet Parasitol 128: 177-181.
98. **Garcia JL, Navarro IT, Ogawa L, Oliveira RC, Kobilka E. 1999.** Soroprevalência, epidemiologia e avaliação ocular da toxoplasmose humana na zona rural de Jaguapita (Paraná), Brasil. Revista Panamericana de Salud Pública 6 (3): 157-163.

99. **García JL, Gennari SM, Machado RZ, Navarro IT. 2006.***Toxoplasma gondii*: Detection by mouse bioassay, histopathology, and polymerase chain reaction in tissues from experimentally infected pigs. *Experimental Parasitol* 113: 267-271.
100. **Garcia JL, Navarro IT, Vidotto O, Gennari SM, Machado RZ, da Luz Pereira AB, Sinhorini IL. 2006.***Toxoplasma gondii*: Comparison of a rhoptry-ELISA with IFAT and MAT for antibody detection in sera of experimentally infected pigs. *Exp Parasitol* 113: 100-105.
101. **García-Bocanegra I, Dubey J.P, Simon-Grifé M, Cabezón O, Casal J, Allepuz A, Napp S, Almería S. 2010.**Seroprevalence and risk factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in pig farms from Catalonia, north-eastern Spain. *Res Vet Sci* 89: 85-87.
102. **Gauss CBL, Dubey JP, Vidal D, Ruiz F, Vicente J, Marco I, Lavin S, Gortazar C, Almería S. 2005.**Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild pigs (*Sus scrofa*) from Spain. *Vet Parasitol* 131: 151-156.
103. **Gazzinelli RT, Hakim FT, Hieny S, Shearer GM, Sher A. 1991.** Synergistic role of CD41 and CD81 T lymphocytes in IFN-gamma production and protective immunity induced by an attenuated *Toxoplasma gondii* vaccine. *J Immunol* 146:286-292.
104. **Gazzinelli RT, Amichay D, Sharton-Kersten T, Grunwald E, Farber JM, Sher A. 1996.** Role of macrophage-derived cytokines in the induction and regulation of cell-mediated immunity to *Toxoplasma gondii*. *Curr Top Microbiol Immunol* 219:127-139.
105. **Gebreyes WA, Bahnson PB, Funk JA, McKean J, Patchanee P. 2008.** Seroprevalence of *Trichinella*, *Toxoplasma*, and *Salmonella* in antimicrobial- free and conventional swine production systems. *Foodborne Pathog Dis* 5: 199-203.

106. **Georgiadis MP, Wesley OJ, Gardner IA, Singh R. 2003.** Correlation-adjusted estimation of sensitivity and specificity of two diagnostic tests. *Appl Stat* 52: 63-78.
107. **Germani F, Pacheco FA. 2003.** Detecção de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soro de suínos criados e abatidos em frigoríficos da região da grande Porto Alegre-RS, Brasil. *Ciencia Rural* 33: 893-397.
108. **Gilbert R, Cook A, Dunn D, 2000.** Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: a European multicenter case-control study. *Brit Med J* 312: 142-147.
109. **Gómez F. 2004.** Estudio sobre la toxoplasmosis en Andorra y el Alto Urgel. Tesis de grado de Doctor. Barcelona: Univ. De Barcelona. 289p.
110. **Gómez O, Chávez A, Casas E, Serrano E, Cárdenas O. 2003.** Determinación de la seroprevalencia de Toxoplasmosis en alpacas y llamas en la Estación Experimental INIA-Puno. *Rev Inv Vet Perú* 14 (1): 49-53.
111. **Gross U, Luder CGK, Hendgen V, Heeg C, Sauer I, Weidner A, Krczal D, Enders G. 2000.** Comparative immunoglobulin G antibody profiles between mother and child (CGMC test) for early diagnosis of congenital toxoplasmosis. *J ClinMicrobiol*38: 3619-3622.
112. **Guevara Collazo GD, Torres Montoya JT, Waissman JC. 1990.** Situación de los ooquistes de *Toxoplasma gondii* en heces de gatos del Distrito Federal, México. *Vet Mexico* 21: 45-48.
113. **Hagemoser WA, Dubey JP, Thompson JR. 1990.** Acute toxoplasmosis in a camel. *J AmVet MedAssoc*196 (2):347.

114. **Haritani M, Shimura K, Iwabuchi I, Kobayashi M, Narita M. 1988.** Demonstration of *Toxoplasma gondii* antigen in stillborn piglets using immunoperoxidase technique. Jpn J Vet Sci50: 954-956.
115. **Hegab SM, Mutawa AI. 2003.** Immunopathogenesis of Toxoplasmosis. Clin Exp Med 3: 84-105.
116. **Hejlícek K, Literák I, Nezval J. 1997.** Toxoplasmosis in wild mammals from the Czech Republic. J Wildl Dis 33:480-485.
117. **Hill DE, Dubey JP. 2002.***Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. Clin Microbiol Infect 8: 634-640.
118. **HillDE,Chirukandoth S, Dubey JP. 2005.** Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. An Heal Res Rev 6(1): 41-61.
119. **HillDE,Chirukandoth S, Dubey JP, Lunney J, Ray Gamble H. 2006.**Comparison of detection methods for *Toxoplasma gondii* in naturally and experimentally infected swine. Vet Parasitol 141: 9-17.
120. **Hill DE, Haley C, Wagner B, Gamble HR, Dubey JP. 2009.** Seroprevalence of and risk factors for *Toxoplasma gondii* in the U.S. swine herd using sera collected during the National Animal Health Monitoring Survey (Swine 2006). Zoonosis Public Health 57: 53-59.
121. **Holland GN. 2003.** Ocular toxoplasmosis: a global reassessment. Part I: epidemiology and course of disease. Am J Ophthalmol 136: 973-988.
122. **Hosseininejad M, Azizi HR, Hosseini F, Schares G. 2009.** Development of an indirect ELISA test using a purified tachyzoite surface antigen SAG1 for sero-diagnosis of canine *Toxoplasma gondii* infection. Vet Parasitol 164: 315-319.

123. **Howe DK, Sibley LD. 1995.** *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *J Infect Dis* 172:1561-1566.
124. **Hove T, Lind P, Mukaratirwa S. 2005.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic pigs reared under different management systems in Zimbabwe. *On J Vet Res* 72: 231-237.
125. **Hunter CA, Bermudez L, Beernink H, Waegell W, Remington JS. 1995.** Transforming growth factor-beta inhibits interleukin-12-induced production of interferon-gamma by natural killer cells: a role for transforming growth factor-beta in the regulation of T cell-independent resistance to *Toxoplasma gondii*. *Eur J Immunol* 25: 994-1000.
126. **Huong LTT, Dubey JP. 2007.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in pigs from Vietnam. *J Parasitol* 93: 951-952.
127. **INEI. 2013.** IV Censo Nacional Agropecuario.[Internet], [30 de agosto de 2014]. Disponible en: <http://goo.gl/11iz00>.
128. **Inoue I, Leow CS, Husin D, Matsuo K, Darmani P. 2001.** A survey of *Toxoplasma gondii* antibodies in pigs in Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Pub Health* 32: 38-40.
129. **Ito S, Tsunoda K, Nishikawa H, Matsui T. 1974.** Small type of *Isospora bigemina*. Isolation from naturally infected cats and relations with *Toxoplasma* oocyst. *Natl Inst Anim Health Q Tokyo* 14(3): 137-144.
130. **Jenum PA, Stray-Pedersen B. 1998.** Development of specific immunoglobulins G, M and a following primary *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. *J Clin Microbiol* 36: 2907-2913.

131. **Jimenez-Coelloa M, Acosta-Viana KY, Guzman-Marina E, Gutierrez-Ruizb EJ, Rodriguez Vivasb RI, Bolio-González ME, Ortega-Pacheco A. 2013.** Presencia de anticuerpos de *Toxoplasma gondii* en cerdos y gatos de traspatio en una región endémica tropical de México. Trop Subtrop Agro 16: 89-92.
132. **Jones JL, Dubey JP. 2010.** Waterborne toxoplasmosis – Recent developments. Exp Parasitol 124: 10-25.
133. **Jongert E, Melkebeek V, De Craeye S, Dewit J, Verhelst D, Cox E. 2008.** An enhanced GRA1—GRA7 cocktail DNA vaccine primes anti-*Toxoplasma* immune responses in pigs. Vaccine 26: 1025-1031.
134. **Jungersen G, Jensen L, Riber U, Heegaard PMH, Petersen E, Poulsen JSD, Bille-Hansen V, Lind P. 1999.** Pathogenicity of selected *Toxoplasma gondii* isolates in young pigs. Int J Parasitol 29: 1307-1319.
135. **Jungersen G, Jensen L, Rask MR, Lind P. 2002.** Non-lethal infection parameters in mice separate sheep type II *Toxoplasma gondii* isolates by virulence. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 25:187-195.
136. **Kang H, Remington JS, Suzuki Y. 2000.** Decreased resistance of B cell – deficient mice to infection with *Toxoplasma gondii* despite unimpaired expression of IFN- γ , TNF- α , and inducible nitric oxide synthase. J Immunol 164 (5): 2629-2634.
137. **Kasper LH. 1998.** *Toxoplasma* infection. En: Harrison's principles of internal medicine. 14^aed. New York: McGraw-Hill Companies Inc. p1197-202.

138. **Khan A, Taylor S, Su C, Mackey AJ, Boyle J, Glover RD, Tang K, Paulsen IT, Berriman M, Boothrooyd JC, Pfefferkorn ER, Dubey JP, Ajioka JW, Roos DS, Wootton JC, Sibley LD. 2005.** Composite genome map and recombination parameters derived from three archetypal lineages of *Toxoplasma gondii*. *Nucleic Acids Res* 33:2980-2992.

139. **Khan IA, Matsuura T, Kasper LH. 1995.** IL-10 mediates immunosuppression following primary infection with *Toxoplasma gondii* in mice. *Parasite Immunol* 17:185-195.

140. **Khan IA, Thomas SY, Moretto MM, Lee FS, Islam SA, Combe C, Schwartzman JD, Luster AD. 2006.** CCR5 is essential for NK cell trafficking and host survival following *Toxoplasma gondii* infection. *PLoS Pathog* 2: 49.

141. **Kijlstra A, Jongert E. 2008.** Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. *Int J Parasitol* 38:1359-1370.

142. **Kijlstra A, Eissen O, Cornelissen J, Munniksma K, Eijck I, Kortbeek T. 2004.** *Toxoplasma gondii* Infection in Animal-Friendly Pig Production Systems. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45(9): 3165-3169.

143. **Kijlstra A, Meerburg B, Cornelissen J, De Craeye S, Vereijken P, Jongert E. 2008.** The role of rodents and shrews in the transmission of *Toxoplasma gondii* to pigs. *Vet Parasitol* 156: 183-190.

144. **Kim JH, Kang KI, Kang WC, Sohn HJ, Jean YH, Park BK, Kim Y, Kim DY. 2009.** Porcine abortion outbreak associated with *Toxoplasma gondii* in Jeju Island, Korea. *J Vet Sci* 10 (2): 147-151.

145. **Klun I, Djurković-Djaković O., Katić-Radivojević S., Nikolić A. 2006.** Cross sectional survey on *Toxoplasma gondii* infection in cattle, sheep and pigs in Serbia: Seroprevalence and risk factors. *Vet Parasitol* 135: 121-131.
146. **Kumagai S, Saga H, Takahashi Y, Shimura O, Hatakeyama N. 1988.** Toxoplasmosis of suckling piglets supposed congenital infection (in Japanese). *J Jpn Vet Med* 41: 251-254.
147. **Langermans JA, Van der Hulst ME, Nibbering PH, Hiemstra PS, Fransen L, Van Furth R. 1992.** IFN-gamma-induced L-arginine-dependent toxoplasmatostatic activity in murine peritoneal macrophages is mediated by endogenous tumor necrosis factor-alpha. *J Immunol* 148:568-574.
148. **Langermans JA, Nibbering PH, Van Vuren-Van Der Hulst ME, Van Furth R. 2001.** Transforming growth factor-beta suppresses interferon-gamma-induced toxoplasmatostatic activity in murine macrophages by inhibition of tumour necrosis factor-alpha production. *Parasite Immunol* 23:169-175.
149. **Leguía G. 2002.** Enfermedades parasitarias de perros y gatos – epidemiología y control. 2ªed. Lima: La Mar. 155p.
150. **Leguía G, Casas E. 1999.** Enfermedades parasitarias y atlas parasitológico de Camélidos Sudamericanos. Lima: La Mar. 190 p.
151. **Lehmann T, Graham DH, Dahl E, Sreekumar C, Launer F, Corn JL, Gamble HR, Dubey JP. 2003.** Transmission dynamics of *Toxoplasma gondii* on a pig farm. *Infection, Genetic and Evolution* 3: 135–141.

152. **Leirs H, Lodal J, Knorr M. 2004.** Factors correlated with the presence of rodents on outdoor pig farms in Denmark and suggestions for management strategies. *Njas-Wageningen J Life Sci* 52: 145-161.
153. **Lind P, Haugegaard J, Wingstrand A, Henriksen SA. 1997.** The time course of the specific antibody response by various ELISAs in pigs experimentally infected with *Toxoplasma gondii*. *VetParasitol* 71: 1-15.
154. **Lindsay DS, Dubey JP. 2009.** Long-term survival of *Toxoplasma gondii* sporulated oocysts in seawater. *J Parasitol* 95 (4): 1119-1120.
155. **Lindsay DS, Blagburn BL, Dubey JP. 2002.** Survival of nonsporulated *Toxoplasma gondii* oocysts under refrigerator conditions. *Vet Parasitol* 103(4): 309-313.
156. **LiuCH, FanY, DiasA, EsperL, CornRA, Bafica A, MachadoFS, AlibertiJ. 2006.** Cutting edge: dendritic cells are essential for in vivo IL-12 production and development of resistance against *Toxoplasma gondii* infection in mice. *J Immunol* 177: 31-35.
157. **Llop A, Valdez M, Zuazo J. 2001.** Microbiología y Parasitología Médicas. La Habana: Ciencias Médicas. p 141-150.
158. **López Ch, Díaz J, Gómez J. 2005.** Factores de riesgo en mujeres embarazadas, infectadas por *Toxoplasma gondii* en Armenia – Colombia. *Rev Salud Públ* 7: 180-190.
159. **Luder CG, Seeber F. 2001.** *Toxoplasma gondii* and MHC-restricted antigen presentation: on degradation, transport and modulation. *Int J Parasitol* 31:1355-1369.

160. **Luft B, Brooks R, Conley F, McCabe R, Remington J. 1984.** Toxoplasmic Encephalitis in Patients With Acquired Immune Deficiency Syndrome. *Jama* 252(7): 913-917.
161. **Lundén A, Lind P, Engvall EO, Gustavsson K, Uggla A, Vågsholm I. 2002.** Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in pigs slaughtered in Sweden. *Scand J Infect Dis* 34: 362-365.
162. **Macrì G, Sala M, Linder A, Pettirossi N, Scarpulla M. 2009.** Comparison of indirect fluorescent antibody test and modified agglutination test for detecting *Toxoplasma gondii* immunoglobulin G antibodies in dog and cat. *Parasitol Res* 105: 35-40.
163. **Martín-Hernández I, García-Izquierdo SM. 2003.** Toxoplasmosis en el Hombre. *Bioquímica* 28(3): 19-27.
164. **Martinez J. 2012.** Porcicultura formal: Rentabilidad y oportunidad de exportación. [Internet], [14 de junio del 2015]. Disponible en: <http://goo.gl/ef1Gof>.
165. **Maurice H, Nielen M, Vyt P, Frankena K, Koenen F. 2007.** Factors related to the incidence of clinical encephalomyocarditis virus (EMCV) infection on Belgian pig farms. *Prev Vet Med* 78: 24-34.
166. **Meerburg BG, Kijlstra A. 2007.** Role of rodents in transmission of *Salmonella* and *Campylobacter*. *J Sci Food Agr* 87: 2774-2781.
167. **Meerburg BG, van Riel JW, Cornelissen JB, Kijlstra A, Mul MF. 2006.** Cats and goat whey associated with *Toxoplasma gondii* infection in pigs. *Vect Borne Zoonotic Dis* 6: 266-274.
168. **Mehlhorn H. 2008.** Encyclopedia of Parasitology. 3^a ed. Alemania: Springer-Verlag. 1573p.

169. Méndez A, Martínez I, Saucedo B, Ramirez J. 2011. Toxoplasmosis en una colonia de monos ardilla (*Saimiri sciureus*) en cautiverio en Cuernavaca, Morelos, México. Vet Méx 42 (2): 115-123.
170. MINAGRI. 2015. Ministerio de Agricultura. [Internet], [04 de octubre de 2015]. Disponible en: <http://goo.gl/20uFlq>.
171. Miro G, Montoya A, Jimenez S, Frisuelos C, Mateo M, Fuentes I. 2004. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* and intestinal parasites in stray, farm and household cats in Spain. Vet Parasitol 126: 249-255.
172. Mitchell SM, Zajac A, Kennedy T, Davis W, Dubey JP, Lindsay DS. 2006. Prevention of recrudescent toxoplasmic encephalitis using ponazuril in an immunodeficient mouse model. J Euk Microbiol 53(1): 164-165.
173. Montoya JG, Liesenfeld O. 2004. Toxoplasmosis. Lancet 363: 1965-1976.
174. Montoya JG, Remington JS. 2008. Management of *Toxoplasma gondii* Infection during Pregnancy. Clin Infec Dis 47(4): 554-566.
175. Montoya MT, Gómes JE, Castaño JC, Marx C, Aubert D, Bonhomme A, Pinon JM. 1996. Avances diagnósticos en Toxoplasmosis. [Internet], [12 de enero de 2015]. Disponible: <http://goo.gl/GcBrKz>.
176. Moreno J, López J, Jiménez R. 2004. El control de los roedores: Revisión de los rodenticidas registrados en el ámbito de la sanidad ambiental en España. Rev Esp Salud Pública. 78: 5-16.

177. **Muñoz E, Chávez A, Casas E, Suárez F, Gavidia C, Muñoz K, Gutiérrez F. 2005.** Frecuencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en monos *Cebus apella* criados en cautiverio. Rev Inv Vet Perú 16 (2): 163-168.
178. **Navarro D. 2014.** Factores de riesgo asociados a la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en mamíferos de orden Carnívora y Primate mantenidos en cautiverio. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 78p.
179. **Oikawa H, Omata Y, Kanda M, Mikazuki K, Yano K, Nakabayashi T. 1990.** Survey on *Toxoplasma* infection in stray cats in western area of Japan during a two-year period. Jpn J Parasitol 39: 462-467.
180. **Oldenhove G, Bouladoux N, Wohlfert E, Hall J, Chow D, Dos santos L, O'Brien S, Blank R, Lamb E, Natarajan S, Kastenmayer R, Hunter C, Grigg M, Belkaid Y. 2009.** Decrease of Foxp3⁺ Treg Cell Number and Acquisition of Effector Cell Phenotype during Lethal Infect. 31:772-786.
181. **Ovalle F, García A, Thibauth A, Lorca M. 2000.** Frecuencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en gatos de la ciudad de Valdivia, Chile. Bol chil Parasitol 55(3-4): 94-99.
182. **Owen MR, Clarkson MJ, Trees AJ. 1998.** Acute phase *Toxoplasma* abortion in sheep. Vet Rec 142: 480-482.
183. **Patton S, Faulkner C, Anderson A, Smedley K, Bush E. 2000.** *Toxoplasma gondii* infection in sows and market-weight pigs in the United States and its potential impact on consumer demand for pork. National Pork Board Report NAHMS Swine 1-11.

184. **Pena, HFJ, Soares RM, Amaku M, Dubey JP, Gennari SM. 2006.***Toxoplasma gondii* infection in cats from Sao Paulo state, Brazil: seroprevalence, oocyst shedding, isolation in mice, and biologic and molecular characterization. *Res Vet Sci* 81: 58-67.
185. **Petersen E, Pollak A, Reiter-Owona I. 2001.** Recent trends in research on congenital toxoplasmosis. *Int J Parasitol* 31:115-44.
186. **Poljak Z, Dewey CE, Friendship RM, Martin SW, Christensen J, Ojkic D, Wu J, Chow E. 2008.** Pig and herd level prevalence of *Toxoplasma gondii* in Ontario finisher pigs in 2001, 2003, and 2004. *Can J Vet Res* 72: 303-310.
187. **Remington JS, McLeod R, Desmonts G. Toxoplasmosis. 2001.** En: *Infectious diseases of the fetus and newborn*. 5^a ed. Philadelphia: W.B. Saunders. p 205-346.
188. **Remington JS, Thulliez P, Montoya JG. 2004.** Recent developments for diagnosis of toxoplasmosis. *J Clin Microbiol* 42: 941-945.
189. **Reyes-Lizano L, Chinchilla M, Guerrero O, Arias M, Castro A. 2001.** Transmisión de *Toxoplasma gondii* en Costa Rica: Un concepto actualizado. *Acta Méd Costarric* 43: 1-5.
190. **Rivera N, Mondragon R. 2010.** Cistogénesis de *Toxoplasma gondii*. *Rev* 29(1): 13-18.
191. **Robert Gangneux F, Laure M. 2012.** Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clin Microbiol Rev* 25(2):264-296.
192. **Rojas M. 2003.** Nosoparasitosis de perros y gatos peruanos. Lima: Martegraf. p 44-48.

193. **Romero G. 2007.** Determinación de la prevalencia de anticuerpos IgM anti-*Toxoplasma gondii* en recién nacidos y anticuerpos IgG en madres mediante tamizaje serológico en dos zonas geográficas de Bolivia. [Internet]. [03 de setiembre del 2014]. Disponible en: <http://goo.gl/9dh9c5>.
194. **Romero J, Sogbe E. 2005.** El cerdo (*Sus scrofa*), fuente de infección de *Toxoplasma gondii* al humano en el Estado Aragua, Venezuela. *Malariol Salud Amb* 45(2):111-117.
195. **Romero J, Sogbe E, Diaz C. 2007.** Estudio Serológico e Histopatológico de la Infección por *Toxoplasma gondii* en Cerdos del estado Aragua-Venezuela. *Rev Fac Cs Vets UCV* 48(2): 85-95.
196. **Romero T, Bermudez M, Dosil PG, Mantiel M, Ruíz A. 1995.** Estudio comparativo entre los métodos de hemaglutinación indirecta e inmunoanálisis enzimática en el diagnóstico de la toxoplasmosis. *Kasmera* 23: 69-88.
197. **Saavedra GM, Ortega YR. 2004.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in swine from slaughterhouses in Lima, Peru, and Georgia, U.S.A. *J. Parasitol* 90: 902-904.
198. **Sabin AB, Olitsky PK. 1937.** *Toxoplasma* and obligate intracellular parasitism. *Sci* 85: 336-338.
199. **Salant H, Markovics A, Spira DT, Hamburger J. 2007.** The development of a molecular approach for coprodiagnosis of *Toxoplasma gondii*. *Vet Parasitol* 146: 214-220.
200. **Schares G, Vrhovec MG, Pantchev N, Herrmann DC, Conraths FJ. 2008.** Occurrence of *Toxoplasma gondii* and *Hammondia hammondi* oocysts in the faeces of cats from Germany and other European countries. *Vet Parasitol* 152: 34-45.

201. **Scott P, Hunter CA. 2002.** Dendritic cells and immunity to leishmaniasis and toxoplasmosis. *Curr Opin Immunol* 14: 466-470.
202. **Sedlák K, Bártová E. 2007.***Toxoplasmóza zvířat a její laboratorní diagnostika v České republice.* *Veterinarství* 57: 562-567.
203. **Shaapan RM, El-Nawawi FA, Tawfik MAA. 2008.** Sensitivity and specificity of various serological tests for the detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sheep. *Vet Parasitol*: 153: 359-362.
204. **Shapira S, Harb OS, Caamano G, Hunter CA. 2004.** The NF- κ B signaling pathway: immune evasion and immunoregulation during toxoplasmosis. *Int J Parasitol* 34: 393-400.
205. **Shiibashi T, Narasaki K, Yoshida M, Nogami S. 2004.**Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibody in hunter-killed wild boars, *Sus scrofa leucomystax*, on Amakusa Island, Kumamoto Prefecture, Japan. *J Vet Med Sci* 66: 327-328.
206. **Sibley D, Krahenbuhl J, Adams M, Weidner E. 1986.***Toxoplasma* modify macrophages phagosomes by secretion of a vesicular network rich in surface proteins. *J Cell Biol* 103:867-874.
207. **Sobral CA, Amendoeira MRR, Teva A, Patel BN, Klein CH. 2005.** Seroprevalence of infection with *Toxoplasma gondii* in indigenos Brazilian populations. *Am J Trop Med Hyg* 72 (1): 37-41.
208. **Sroka J, Wójcik-Fatla A, Dutkiewicz J. 2006.** Occurrence of *Toxoplasma gondii* in water from wells located on farms. *Ann Agric Environ Med* 13(1): 169-175.

209. **Sroka J, Cencek T, Ziomko I, Karamon J, Zwoliński J. 2008.** Preliminary assessment of ELISA, MAT, and LAT for detecting *Toxoplasma gondii* antibodies in pigs. Bull Vet Inst Pulawy 52: 545-549.
210. **Steinparzer R, Reisp K, Grünberger B, Köfer J, Schmoll F, Sattler T. 2015.** Comparison of Different Commercial Serological Tests for the Detection of *Toxoplasma gondii* Antibodies in Serum of Naturally Exposed Pigs. Zoonoses Public Health 62: 119-124.
211. **Suárez F, Andrade H, Galisteo A, Miguel O. 2002.** Concordancia de las pruebas de ELISA y Hemaglutinación indirecta en el diagnóstico de la Toxoplasmaosis porcina. Rev Inv Vet Perú 13(1): 84-86.
212. **Suaréz-Aranda F, Galisteo Jr AJ, Hiramoto RM, Cardoso RPA, Meireles LR, Miguel O, Andrade Jr HF. 2000.** The prevalence and avidity of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in pigs from Brazil and Peru. Vet Parasitol 91: 23-32.
213. **Suzuki Y, Orellana MA, Schreiber RD, Remington JS. 1988.** Interferon-gamma: the major mediator of resistance against *Toxoplasma gondii*. Science 240:516-518.
214. **Svobodova V, Knotek Z, Svoboda M. 1998.** Prevalence of IgG and IgM antibodies specific to *Toxoplasma gondii* in cats. Vet Parasitol 80: 173-176.
215. **Switaj K, Master A, Skrzypczak M, Zaborowski P. 2005.** Recent trends in molecular diagnostics for *Toxoplasma gondii* infections. Clin Microbiol Infect 11:170-176.
216. **Tenter AM. 2009.** *Toxoplasma gondii* in animals used for human consumption. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 104: 364-369.

217. **Tenter AM, Heckeroth A, Weiss LM. 2000.***Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Int J Parasitol 30: 1217-1258.
218. **Tissot Dupont D, Fricker-Hidalgo H, Brenier-Pinchart MP, Bost-Bru C, Ambroise-Thomas P, Pelloux H. 2003.** Usefulness of Western blot in serological follow-up of newborns suspected of congenital toxoplasmosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 22:122-125.
219. **Tsai YJ, Chung WC, Fei ACY, Kaphle K, Peng S, Wu YL. 2007.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in pigs from slaughterhouses in Taiwan. J Parasitol 93: 1540-1541.
220. **Tsutsui VS, Navarro IT, Freire RL, Freitas JC, Prudencio LB, Delbem ACB, Marana ERM. 2003.** Seroepidemiologia e fatores associados à transmissão do *Toxoplasma gondii* em suínos do norte do Paraná. Arch Vet Sci 8(2): 27-34.
221. **Turčeková L, Antolová D, Reiterová K, Spišák F. 2013.** Occurrence and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* in naturally infected pigs. Acta Parasitol 58: 361-366.
222. **van der Giessen J, Fonville M, Bouwknegt M, Langelaar M, Vollema A. 2007.** Seroprevalence of *Trichinella spiralis* and *Toxoplasma gondii* in pigs from different housing systems in The Netherlands. Vet Parasitol 148: 371-374.
223. **van Kanapen F, Kremers AFT, Franchimont JH, Naruka U. 1995.** Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in cattle and swine in The Netherlands: towards and integrates control of livestock production. Vet Quart 17: 87-91.

224. **Venturini L, Venturini MC, Omata Y, Di Lorenzo C, De Carolls G. 1997.** *Toxoplasma gondii*: La respuesta inmune por IgG durante el periodo patente en un gato doméstico infectado naturalmente. Rev Med Vet 78: 258-260.
225. **Venturini MC, Bacigalupe D, Venturini L, Rambeaud M, Basso W, Unzaga JM, Perfumo CJ. 2004.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in sows from slaughterhouses and in pigs from an indoor and outdoor farm in Argentina. Vet Parasitol 124: 161-165.
226. **Veronesi F, Ranucci D, Branciarri R, Miraglia D, Mammoli R, Fioretti DP. 2011.** Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection on finishing swine reared in the Umbria region, central Italy. Zoonoses Public Health 58.
227. **Villari S, Vesco G, Petersen E, Crispo A, Buffolano W. 2009.** Risk factors for toxoplasmosis in pigs bred in Sicily, Southern Italy. Vet Parasitol 161: 1-8.
228. **Vollaire, MR, Radecki SV, Lappin MR. 2005.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in clinically ill cats in the United States. Am J Vet Res 66: 874-877.
229. **Vostalová E, Literák I, Pavlásek I, Sedlák K. 2000.** Prevalence of *Toxoplasma gondii* in finishing pigs in a large-scale farm in the Czech Republic. Acta Vet Brno 69: 209-212.
230. **Wainwright KE, Miller MA, Barr BC, Gardner IA, Melli AC, Essert T, Packham, AE, Truong T, Lagunas-Solar M, Conrad PA. 2007.** Chemical inactivation of *Toxoplasma gondii* oocysts in water. J Parasitol 93: 925-931.

231. **Waltman WD, Dreesen DW, Prickett MD, Blue JL, Oliver DC. 1984.** Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of toxoplasmosis in swine: Interpreting assay results and comparing with other serologic tests. *Am J Vet Res* 45: 1719-1725.
232. **Wang CH, Diderrich V, Kliebenstein J, Patton S, Zimmerman J, Hallam A, Bush E, Faulkner C. McCord R. 2000.** *Toxoplasma gondii* levels in swine operations: differences due to technology choice and impact on costs of production. Iowas State University. [Internet]. [30 de octubre del 2014]. Disponible en: <http://goo.gl/ndmzfU>.
233. **Weigel RM, Dubey JP, Dyer D, Siegel AM. 1999.** Risk factors for infection with *Toxoplasma gondii* for residents and workers on swine farms in Illinois, USA. *Am J Trop Med Hyg* 60: 793–799.
234. **Weigel RM, Dubey JP, Siegel AM, Kitron UD, Mannelli AM, Michell MA, Mateus-Pinilla NE, Thulliez P, Shen SK, Kwok OCH, Todd KS. 1995.** Risk factors for transmission of *Toxoplasma gondii* on swine farms in Illinois. *J Parasitol* 81: 736-741.
235. **Weinman D, Chandler AH. 1954.** Toxoplasmosis in swine and rodents. Reciprocal oral infection and potential human hazard. *Proc Soc Exp Biol Med* 87: 211-216.
236. **Weissenbock H, Dubey JP. 1993.** Toxoplasmosis epizootie in einem Mastschweinebestand. *Dtsch Tierärztl Wschr* 100: 370-374.
237. **Wiener Lab. 2000.** Toxotest HAI. Prueba de Hemoaglutinación indirecta. Winner Group Lab. Buenos Aires, Argentina. 8 p.
238. **Work TM, Massey JG, Rideout BA, Gardiner CH, Ledig DB, Kwok OCH, Dubey JP. 2000.** Fatal toxoplasmosis in free-ranging endangered 'alala from Hawaii. *J Wildlife Dis.* 36: 205-212.

- 239. Yilmaz SM, Hopkins SH. 1972.** Effects of different conditions on duration of infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts. J Parasitol 58: 938-939.
- 240. Zou FC, Sun XT, Xie YJ, Li B, Zhao GH, Duan G, Zhu XQ. 2009.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in pigs in Southwestern China. Parasitol International 58: 306-307.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento Informado para los propietarios de crianzas porcinas.

Lima-Perú

CONSENTIMIENTO INFORMADO
GRANJAS PORCINAS, LIMA - PERÚ



Estimado Participante:

Yo Christian Felix Luyo Avila, estudiante del último año de Medicina Veterinaria de la UNMSM, estoy llevando a cabo como tesis para optar por el título de médico veterinario un estudio sobre: **“Factores asociados a la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en cerdos de granjas tecnificadas y no tecnificadas de Lima – Perú”**

El objetivo del estudio es determinar la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii*, en cerdos de granjas tecnificadas y no tecnificadas (en forma anónima) del departamento de Lima, así como los factores asociados a su transmisión.

La investigación consta de dos partes:

Primero: Aplicar una ficha o encuesta Clínico Epidemiológica, donde se recabará información de cada granja, datos generales, costumbres, estado sanitario, manejo, personal de trabajo, etc.

Segundo: Para analizar la presencia de anticuerpos se colectarán muestras de sangre de los cerdos de acabado en centros de beneficio. Las muestras serán trasladadas al Laboratorio de Parasitología de la FMV-UNMSM para su respectivo análisis.

La información obtenida a través de este estudio será mantenida bajo estricta confidencialidad y el nombre de la granja no será empleado, se utilizará un sistema de codificación

El estudio no conlleva a ningún riesgo, no recibirá compensación monetaria por su participación. Los resultados serán entregados al director personalmente, si así desea solicitarlos. Si tiene alguna pregunta sobre la investigación, me puede contactar a los teléfonos 940907934 / 4353348-anexo 226 o mi correo electrónico: christian_felix91@hotmail.com.

He leído y comprendido la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado sobre el tema de investigación: **“Factores asociados a la seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en cerdos de granjas tecnificadas y no tecnificadas de Lima – Perú”**.

Consiento voluntariamente participar en esta investigación como participante y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento.

Nombre y Firma del Participante

Fecha

Anexo 2. Encuesta Epidemiológica aplicada en granjas tecnificadas y no tecnificadas de
Lima - Perú

ENCUESTA EPIDEMIOLÓGICA



Encuestador:

Fecha:

I. Información General

Nombre de la granja:

Nombre del propietario:

Domicilio:

Tipo de granja:

☐ Tecnificada

☐ No tecnificada

Número total de cerdos:

☐ <50

☐ 51 - 100

☐ >100

II. Medidas higiénico - sanitarias

¿Qué tipo de alojamiento presenta la granja?

☐ Confinado

☐ Confinado con acceso a potrero o pastoreo

☐ A campo

☐ Combinado

¿De qué manera limpia los alojamientos?

☐ Manual sin agua

☐ Manual con agua

☐ Automático

¿Con que frecuencia?_____

¿Realiza tratamiento de los efluentes?

☐ Si

☐ No

Si la respuesta es afirmativa, indique que tratamiento utiliza

☐ Apilado

☐ Compostaje

☐ Fosa de retención

☐ Laguna de estabilización

☐ Otro, especifique_____

De tratar o no los efluentes ¿Cuál es el destino de ellos?

☐ Vertido en aguas

☐ Fertilización

☐ Otros, especifique_____

Además de la crianza de cerdos ¿Qué otra especie produce o cría?

X	Especie	N°	X	Especie	N°
	Vacuno			Aves	
	Ovino			Perros	
	Equinos			Gatos	
	Otros, especifique:				

¿Vacuna a su ganado contra alguna de las siguientes enfermedades?

X	Enfermedad	Periodicidad	Nombre comercial
	Peste porcina clásica		
	Mycoplasma hyopneumoniae		
	Colibacilosis		
	Fiebre aftosa		
	Pasteurella		
	Parvovirus/Leptospirosis/Erisipela		
	Otras, especifique:		
	No vacuna		

¿De cuál de los siguientes elementos de bioseguridad dispone su granja?

- ☐ Arco de desinfección
- ☐ Pediluvio para desinfección de calzado
- ☐ Rodoluvio o pozo para desinfección de llantas
- ☐ Bomba mochila para desinfección de ingreso a la granja
- ☐ Se realizan chequeos médicos a los trabajadores, si la respuesta es afirmativa indique periodicidad_____
- ☐ Se realiza cuarentena a los animales nuevos antes del ingreso a la granja, indique el tiempo_____
- ☐ Registro de ingreso de visitantes a predio
- ☐ Ducha sanitaria y cambio de vestuario para ingreso a área limpia
- ☐ Deposita a los animales en posas de mortalidad, en caso de no ser así, especifique sus medidas_____
- ☐ Realiza un vacío sanitario de los galpones luego de su desinfección, indique el tiempo
- ☐ Conoce el estatus sanitario de su granja
- ☐ Realiza control de vectores (pájaros, roedores, insectos), indique sus medidas_____

¿Qué tipo de registros lleva su producción?

- ☐ Registros productivos ☐ Registros sanitarios
☐ Otros, especifique _____ ☐ No lleva registro

¿Dónde vierte sus residuos?

- ☐ Ríos – Quebradas ☐ Alcantarillado publico
☐ Laguna Oxidación – Biodigestor ☐ Otro, especifique _____

¿Dispone la granja de asesoramiento técnico?

- ☐ MV ☐ Zootecnista ☐ No dispone

¿Dispone la granja de las siguientes autorizaciones oficiales?

- ☐ SENASA ☐ DIGESA ☐ No dispone

III. Aspectos de alimentación

¿Qué tipo de alimento reciben los cerdos?

- ☐ Ración ☐ Granos ☐ Pastura ☐ Subproductos
☐ Restos de cultivo ☐ Residuos
☐ Otro, especifique _____

De ser su respuesta subproductos, indique el origen

- ☐ Industria láctea ☐ Molinería ☐ Industria frigorífica
☐ Industria de alimento humano ☐ Otro, especifique _____

En caso de usar raciones y granos ¿Cuál es el origen?

- ☐ Propio ☐ Comprado ☐ Regalado

¿Qué sistema de alimentación utiliza?

- ☐ Concentrado solo ☐ Concentrado - Pastura
☐ Concentrado, subprod lácteo – Pastura ☐ Concentrado – Ind láctea
☐ Concentrado – Restos Ind alimentaria ☐ Concentrado – Restos Ind Carne
☐ Suero y/o Pastura ☐ Restos y otros

¿Dónde almacena los alimentos? _____

IV. Información sobre *Toxoplasma gondii*

¿Conoce de *Toxoplasma*? ☐ Si ☐ No

¿En su granja hay presencia de gatos? ☐ Si ☐ No

Si la respuesta es afirmativa indique la cantidad

Ni ☐ 1 ☐ \geq ☐

Hay presencia de gatos vecinos ☐ Si ☐ No

¿Qué tipo de alimentación reciben?

☐ Concentrado ☐ Presas ☐ Otros, especifique _____

Los gatos tienen acceso a cadáveres ☐ Si ☐ No

Si existen gatos ¿Estos tienen acceso a los comederos y bebederos?

☐ Si ☐ No

¿Ha observado presencia de roedores? ☐ Si ☐ No

Si la respuesta es afirmativa ¿Estos animales tienen acceso a comederos y bebederos?

☐ Si ☐ No

¿Los roedores tienen acceso al área de almacén de alimentos? ☐ Si ☐ No

¿Desparasita a sus animales? ☐ Si ☐ No

X	Especie	Producto	Periodicidad
	Porcino		
	Gato		

¿Cuál es el origen del agua?

☐ Arroyo/Rio ☐ Pozo profundo ☐ Agua potable ☐ Estanque

☐ Otro, especifique _____

¿Posee zonas inundables o de agua estancada? ☐ Si ☐ No

En caso afirmativo ¿Beben ahí los animales? ☐ Si ☐ No

¿Realiza limpieza de los bebederos y comederos? ☐ Si ☐ No

En caso afirmativo ¿Cada cuanto tiempo? _____

¿Realiza control serológico de alguna enfermedad? ☐ Si ☐ No

Indique las enfermedades que realiza control serológico _____

¿Realiza control serológico de Toxoplasma en sus cerdos? ☐ Si ☐ No

Si la respuesta es afirmativa, indique los animales sometidos a control, la periodicidad y la fecha del siguiente examen serológico

Tipos de animales	Periodicidad	Fecha de Próximo control
Padrillos		
Cerdas en lactación		
Lechones pie madre		
Cerdas no lactantes		
Destetados <25Kg		
Cerdos 25 – 60Kg		
Cerdos >60Kg		

¿Realiza control de roedores? ☐ Si ☐ No

Si la respuesta es afirmativa, indique el método utilizado?

☐ Trampas ☐ Rodenticidas ☐ Otros, especifique_____

En el caso de rodenticidas, indique el nombre del producto, periodicidad y zona de aplicación.

Nombre del producto	Periodicidad	Área de aplicación

V. Información para camales

¿A qué edad manda a camal a sus cerdos? _____

¿Cuál es el peso promedio de cerdos a beneficio? _____

Indique el nombre del camal donde beneficia a sus cerdos _____

Indique los días específicos de envío a camal

☐ Lunes ☐ Martes ☐ Miércoles ☐ Jueves
☐ Viernes ☐ Es variable, especifique_____

Anexo 3. Protocolo de ELISA indirecto. Priocheck *Toxoplasma* Ab porcine

PRIOCHECK *Toxoplasma* AB PORCINE



I. MATERIALES DE LABORATORIO

1.	Micropipeta monocanal de 10 μ L	
2.	Micropipeta monocanal de 10-100 μ L	
3.	Micropipeta monocanal de 100-1000 μ L	
4.	Micropipeta multicanal de 20-200 μ L	
5.	Micropipeta multicanal de 50-300 μ L	
6.	1 Caja de Tips de 10 μ L	
7.	3 Cajas de Tips de 200 μ L	
8.	Recipiente de Tips usados	
9.	5 reservorios multicanales	
10.	Placa de dilución de fondo plano	
11.	Probeta de 100mL	
12.	Matraz Erlenmeyer	
13.	Vaso de Precipitado	
14.	Capsula de magneto	
15.	Agua estéril	
16.	Plumón indeleble	
17.	Tijera	
18.	Papel de parafina	
19.	Papel toalla	
20.	Cinta adhesiva	
21.	Caja oscura para ELISA	
22.	Hoja de ELISA	

II. MATERIAL BIOLÓGICO

1.	Controles positivos fuertes	
2.	Controles positivos débiles	
3.	Controles negativos	
4.	Sueros de porcinos	

III. REACTIVOS

1.	Diluyente de muestra	
2.	Solución de Lavado	
3.	Diluyente de Conjugado	
4.	Conjugado	

5.	Sustrato Cromógeno	
6	Solución de Frenado	

IV. EQUIPOS

1.	Shaker (Homenizador)	
2.	Agitador magneto	
3.	Incubadora 22°C	
4.	Lector de ELISA 450nm	

V. PROCEDIMIENTO

Un día antes de realizar la prueba, se debe trasladar los sueros de congelación (-69°C) a refrigeración (0-4°C).

1.	Colocar los sueros en una plancha codificada.	
2.	Homogenizar cada suero utilizando el shaker.	
	Codificar la placa de dilución utilizando el plumón indeleble.	
Preparación de la muestra		
	Añadir 90µL de diluyente de muestra a cada pocillo de la placa de dilución.	
	Agregar 10 µL de control positivo fuerte a los pocillos A1 y B1 de la placa de dilución sin recubrir y homogenizar tomando y soltando cinco veces.	
	Agregar 10 µL de control positivo débil a los pocillos C1 y D1 de la placa de dilución sin recubrir y homogenizar tomando y soltando cinco veces.	
	Agregar 10 µL de control negativo a los pocillos E1 y F1 de la placa de dilución sin recubrir y homogenizar tomando y soltando cinco veces.	
	Agregar 10µL de las muestras de suero al resto de pocillos de la placa de dilución y homogenizar tomando y soltando cinco veces.	
	Pegar con cinta adhesiva la placa de ensayo.	
	Añadir 80µL de diluyente de muestra a cada pocillo de la placa de ensayo.	
	Transferir 20µL de las muestras diluidas y de sus controles de la placa de dilución a la placa de ensayo y mezclar tomando y soltando la muestra 5 veces con la pipeta.	
Incubación de la muestra		
	Tapar la placa de ensayo con el papel de parafina y colocar en la caja oscura.	
	Llevar a la incubadora y dejar incubando a 22±3°C (Prom. 22°C) durante 60 minutos	
	Preparar la solución de trabajo de líquido de lavado mezclando 270 mL de agua estéril y 30 mL de solución de lavado, homogenizar en el Matraz Erlenmeyer	
	Preparar la solución de trabajo Conjugado mezclando en un vaso de precipitado 11 600 mL de diluyente de conjugado y 400mL de Conjugado, homogenizar utilizando el agitador magneto.	
Lavado y Conjugado		
	Lavar la placa de ensayo 4 veces con 200µL de la solución de trabajo de líquido de	

	lavado.	
	Añadir 100µL de conjugado diluido a cada pocillo de la placa de ensayo	
	Incubar la placa de ensayo a 22±3°C (Prom. 22°C) durante 60 minutos.	
	Lavar la placa de ensayo 4 veces con 200µL de la solución de trabajo de liquido de lavado.	
	Eliminar el liquido restante golpeando la placa sobre el papel absorbente	
Detección		
	Agregar 100µL de Sustrato cromógeno (TMB) a cada pocillo de la placa de ensayo.	
	Incubar la placa de ensayo a 22±3°C (Prom. 22°C) durante 15 minutos	
	Agregar 100µL de solución de frenado en el mismo orden en que se agrego la solución de sustrato cromógeno (TMB).	
	Agitar manualmente la placa de ensayo durante 5-10 segundos.	
	Leer la placa de ensayo en el Lector de ELISA a 450nm antes de 15 minutos (Recomendación: Usar Filtro de 620nm).	

VI. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Calculo de Resultados

$$\frac{OD\ 450nm\ Muestra - OD450nm\ Control\ negativo}{D\ 450nm\ Control\ positivo - OD450nm\ Control\ negativo} * 100 = \% Positividad$$

Criterios de Validación

- La OD₄₅₀ media de los controles positivos debe ser >1.2
- El porcentaje de positividad (PP) promedio de los controles positivos débiles debe ser >35%
- La OD₄₅₀ media de los controles negativos debe ser <0.15

Si no se cumplen estos criterios, los resultados no son válidos y debe volver a analizar la prueba.

Interpretación de resultados

- Se toma como punto de corte un valor de PP=20%
- Los resultados iguales o superiores del 20% de PP se consideran positivos.
- Los resultados inferiores al 20% de PP se consideran negativos.